UNIVERSITÉ DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année Scolaire 1932-1933 — N° 88

CONTRIBUTION

à l'Etude chimique de la Poudre de Foie

Thèse

présentée et soutenue publiquement le Juillet 1933
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Madame FISZERMAN, née GARBER DVORA

Examinateurs de la Thèse :

MM. E. LABORDE, Professeur, Président
F. LOBSTEIN, Professeur
E. LAPP, Chargé d'un Cours } Juges

P. BOLL, Imp. PARIS
1933

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année Scolaire 1932-1933 — N° 88

CONTRIBUTION

à l'Etude chimique de la Poudre de Foie

Thèse

présentée et soutenue publiquement le Juillet 1933
à la FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université
(Mention Pharmacie)

par

Madame FISZERMAN, née GARBER DVORA

Examinateurs de la Thèse :

MM. E. LABORDE, Professeur, Président
F. LOBSTEIN, Professeur
E. LAPP, Chargé d'un Cours } Juges

P. BOLL, Imp. PARIS
1933

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. LOBSTEIN, Doyen, ✻, ⚗, I. ⚘, ❁.
A. SARTORY, Assesseur, C. ✻, I. ⚘, C. ❁.
CUVIER, Secrétaire, A. ⚘.

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ⚘, ❁.

PROFESSEURS

MM.	JADIN, O. ✻, I. ⚘, ❁	Pharmacie chimique
	A. SARTORY, C. ✻, I. ⚘, C. ❁	Bactériologie
	LAVIALLE, I. ⚘, ❁	Botanique
	LABORDE, ✻, I. ⚘	Chimie organique
	VOLMAR, I. ⚘	Analyse chimique
	LOBSTEIN, ✻, ⚗, I. ⚘, ❁	Matière médicale
	GUILLAUME, ✻, ⚗, I. ⚘, ❁	Pharmacie galénique

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. BRAEMER, ✻, I. ⚘, O. ❁.
JADIN, O. ✻, I. ⚘, ❁.

CHARGE DES FONCTIONS D'AGREGE

M. R. SARTORY, ❁.

COURS COMPLEMENTAIRES

MM.	LABORDE, ✻, I. ⚘	Chimie biologique
	VOLMAR, I. ⚘	Chimie minérale
	LOBSTEIN, ✻, ⚗, I. ⚘, ❁	Hydrologie et Hygiène
	GUILLAUME, ✻, ⚗, I. ⚘	Zoologie
	R. SARTORY, ❁	Cryptogamie
	COLLARD, I. ⚘, ⚗	Toxicologie
	LAPP, A. ⚘	Physique
	BRÆMER, ✻, I. ⚘, O. ❁	Législation et Déontologie

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	COLLARD, I. ⚘, ⚗	Chimie et Physique
	R. SARTORY, ❁	Bactériologie et Parasitologie
	LAPP, A. ⚘	Chimie pharmaceutique
	BOHN, A. ⚘	Histoire naturelle

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

A NOTRE MAITRE

ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur LABORDE

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Chevalier de la Légion d'honneur

Hommage de respectueuse admiration
et de vive gratitude.

A Monsieur le Professeur JADIN

Doyen Honoraire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg

Hommage respectueux.

A MES JUGES :

Mr. le Professeur LOBSTEIN

Doyen
de la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

Mr. LAPP

Chargé d'un cours
à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

Hommage
de profonde reconnaissance.

A LA MEMOIRE DE MA MERE ET DE MON PERE,

A MON MARI J.-H. FISZERMAN, DOCTEUR EN PHARMACIE,

A MES SŒURS ET A MES BEAUX-FRERES,

A MON GRAND-PERE,

A MES BEAUX-PARENTS,

A MES BELLES-SŒURS,

A TOUS LES MIENS,

A MES AMIS.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548010_0031

AVANT-PROPOS

Les nombreux physiologistes et chimistes qui se sont intéressés à l'étude de préparations opothérapiques du foie ont réuni un faisceau varié de notions sur cet organe. Cependant, les connaissances chimiques sont encore assez incomplètes.

Nous avons donc jugé utile et intéressant de faire une mise au point des renseignements qui ont été publiés jusqu'à ce jour et de compléter les connaissances d'ordre chimique sur la composition du foie.

Ce travail a été élaboré dans le laboratoire de chimie organique et chimie biologique de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Nos recherches comprennent deux parties principales; dans la première partie, nous nous occupons de l'opothérapie, de quelques données générales sur le foie et nous rappelons les principaux travaux chimiques exécutés jusqu'à ce jour.

Nos recherches personnelles font l'objet de la deuxième partie.

Avant d'exposer nos recherches, nous tenons à exprimer à notre Maître, M. le Professeur E. Laborde, qui nous a proposé le sujet de cette thèse, notre respectueuse gratitude pour l'attention avec laquelle il a guidé notre travail, ses précieux conseils et ses encouragements de tous les instants. Qu'il veuille bien recevoir ici l'hommage de notre profonde reconnaissance.

Nous témoignons aussi notre profonde gratitude à M. le Professeur F. Jadin, doyen honoraire de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, pour la bienveillance avec laquelle il a toujours si aimablement suivi nos efforts.

Nous adressons également l'expression de notre respectueuse gratitude à M. le Professeur E. Lobstein, doyen de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, ainsi qu'à M. Lapp, chargé de cours à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg, pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre travail, et la bienveillance qu'ils nous ont témoignée en diverses circonstances, et en particulier en nous faisant l'honneur de faire partie de notre Jury de thèse.

PREMIÈRE PARTIE

I. Quelques brefs renseignements sur l'Opothérapie

L'opothérapie ou organothérapie est la thérapeutique par les produits d'origine animale. Elle ne représente en réalité qu'une branche de la chimiothérapie qui utilise les agents chimiques proprements dits ; les produits opothérapiques, bien que dérivés de la vie cellulaire, ne sont plus vivants et sont, par conséquent, des simples corps chimiques.

En effet, un médicament, malgré son origine animale, apparaît comme un simple corps chimique du moment où l'on connaît sa constitution chimique et qu'on peut le préparer synthétiquement, ce qui se passe par exemple pour l'adrénaline. Cependant, le mode d'action des produits opothérapiques est bien spécial. Ce sont des produits souvent spécifiques agissant électivement sur telle ou telle partie de l'organisme vivant, se comportant thérapeutiquement comme ils se comporteraient chez l'animal dont on les extrait.

Aperçu historique

L'histoire (1-2) de « l'opothérapie » prend naissance aux temps les plus reculés.

(1) Carnot P. — Médicaments animaux. Opothérapie 1911, Baillère et Fils, édit. Paris.

(2) Byla P. et Penau H. — Les produits biologiques médicinaux, 1921.

Les Indous, malgré leur croyance à la métapsychose, utilisaient des remèdes d'origine animale, spécialement des glandes génitales comme aphrodisiaque. Les Chinois eurent recours à un grand nombre de médicaments opothérapiques. Les Hébreux connaissaient l'usage du fiel dans les ophtalmies.

Homère raconte comment Chiron le Centaure fortifiait Achille en lui faisant ingérer de la moelle de lion. Hérodote, Hippocrate et Asclépiade parlent de médicaments animaux dont quelques-uns sont encore utilisés actuellement.

Ainsi, Hippocrate mentionne l'emploi des cantharides dans les néphrites, à doses très minimes, alors qu'elles produisent, à la dose de quelques milligrammes, une irritation très vive et des lésions marquées des reins ; et celui du lait dans lequel on avait éteint des cailloux (addition de chaux), contre la diarrhée.

Musa, Andromaque et Galien introduisaient à Rome la chair de vipère contre les ulcères, ainsi que la fameuse thériaque et le foie de loup pour traiter la jaunisse, etc...

Pline vante les remèdes animaux comme plus efficaces que ceux des plantes et les appelle des remèdes vivants.

Le moyen âge continue la tradition. Mesné, un Arabe chrétien, donne des formules qui se trouvent jusqu'à la fin du XVI^e^ siècle dans les pharmacopées. On utilise la cervelle de chameau, le cœur de rossignol, pour rétablir la mémoire, les excréments de porc pour combattre les hémorragies, et les testicules de porc contre l'impuissance sexuelle.

Paracelse commence à extraire la quintessence des organes. Jean de Renou, médecin d'Henri IV, souligne la vertu particulière des excréments des animaux.

Au XVII^e^ siècle, l'opothérapie est toujours en vogue. On utilise d'une part les organes animaux (tels que le foie, testicules, poumons, sang, etc...) et d'autre part, des produits d'excrétions : la fiente des chiens « album græcum », celle de porc, d'oie, d'épervier, d'homme, etc... On a aussi préconisé l'emploi, dans un but thérapeutique, d'animaux venimeux ou répugnants (vipère, scorpion, crapaud, etc...).

Mme de Sévigné écrivait à sa fille : « Mlle de La Fayette vient de prendre du bouillon de vipère qui lui donne des forces à vue d'œil. J'ai pris huit gouttes d'essence d'urine de vipère pour mes vapeurs » et elle ajoute qu'elle se trouve bien du remède.

« La très ancienne pharmacie faisait entrer dans son code de matière médicale beaucoup de substances animales dégoûtantes et qu'on ne peut même nommer sans répugnance. A mesure que les connaissances se sont développées, on les a rejetées » (3). Il n'est pas étonnant qu'après tant d'abus, vint la décadence. A la fin du XVIII[e] siècle, l'opothérapie est très en discrédit, et elle est, pour ainsi dire, oubliée du monde médical pendant un siècle.

On n'employait plus guère, comme remèdes animaux, que les cantharides, le castoréum, les yeux d'écrevisse.

Le XIX[e] siècle vit renaître l'opothérapie sur une base scientifique.

En 1867, Claude Bernard pose le principe des sécrétions internes. Brown-Séquard, en 1889, publie les résultats de ses expériences sur l'action thérapeutique de l'extrait testiculaire (4). A la suite de recherches ultérieures, il émet l'opinion que chaque tissu, et plus généralement que chaque cellule de l'organisme secrète, pour son propre compte, des produits ou des ferments spéciaux, qui sont versés dans le sang, et qui viennent influencer, par l'intermédiaire de ce liquide, toutes les autres cellules, rendues ainsi solidaires les unes des autres, par un mécanisme autre que celui du système nerveux (5).

Pour parer aux insuffisances sécrétoires, causes des troubles pathologiques, l'opothérapie moderne administre à l'organisme défaillant ces sécrétions internes, parmi lesquelles il en est de nutritives, d'excitantes et d'autres modératrices. Certes, il y a encore des préparations opothérapiques dont la preuve de l'action pharmacodynamique ne se base que sur la très ancienne loi du remplacement d'un organe par celui que l'on emprunte aux organes homologues d'une autre espèce animale.

Mais, la science nouvelle de l'endocrinie se développe, et étend son domaine. D'empirique qu'elle était autrefois, l'opothérapie tend, de plus en plus, grâce au concours de sciences comme la physiologie, la biologie et la chimie organique, à devenir scientifique et rationnelle et à offrir à la thérapeutique des ressources nouvelles et variées.

---

(3) Baumé. — Eléments de Pharmacie, 1797, p. 77.

(4) Brown-Séquard. — Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules de cobayes et de lapins, C. R. Soc. Biol., Juin 1889, p. 415.

(5) Brown-Séquard et d'Arsonval. — De l'injection des extraits liquides provenant de glandes et des tissus de l'organisme comme méthode thérapeutique, C. R. Soc. Biol., 1891, XXXXIII, p. 248, 265.

II. Quelques données générales sur le foie

1. Histoire du foie comme médicament dans l'opothérapie

On avait déjà employé le foie dans l'antiquité et au moyen âge soit cru, soit desséché.

2. Mode d'action et indications thérapeutiques

Son emploi est indiqué surtout dans les cas des maladies de foie, cirrhoses, ictères, cholecystites, maladie de Banti, troubles intestinaux, anémie, diabète sucré, la goutte et les dermatoses (6), la forme préférée est la *poudre de foie* ou *hépatine*.

L'industrie prépare une forme sèche (dont 1 gr. = 4 gr. foie frais de porc) en cachets de 0,25 — 1., dont on prend 2 à 4 par jour ; il est aussi administré sous forme liquide.

3. Préparation

Les organes provenant surtout du porc, sont soigneusement débarrassés de toutes annexes, broyés au moulin ; la pulpe obtenue est étalée en une mince couche sur des cuvettes de porcelaine et séchée dans le vide à une température qui ne dépasse pas 20 à 25°.

La pulpe est réduite en poudre et mise ensuite dans des bocaux en verre.

4. Sa composition chimique

Le foie a été l'objet de nombreuses analyses chimiques, dont nous ne citerons que celles qui nous paraissent les plus intéressantes.

On doit à Bibra et à Oidtmann des analyses du foie de l'homme et des animaux. Le premier a négligé l'évaluation des substances minérales, ce qui fait qu'on ne peut connaître exactement la teneur des matières organiques.

(6) Journ. Ph et Ch., 1925 [8], V, p. 371.

Oidtmann est venu combler cette lacune en s'attachant surtout à la détermination des matières minérales.

Composition du foie (d'après Bibra) :

Pour 100 parties	Jeune homme	Bœuf	Veau	Chevreuil	Pigeon
Eau	76,17	71,92	72,80	72,86	71,97
Matières solides	23,33	28,08	27,20	27,14	28,03
Tissus insolubles	9,44	11,29	11,04	12,00	11,40
Albumine soluble	2,40	2,35	1,90	3,22	1,77
Glutine	3,37	6,25	4,72	4,17	4,34
Matières extractives	6,07	4,91	7,15	4,23	5,17
Matières grasses	2,50	3,28	2,39	3,52	5,36

Composition du foie (d'après Oidtmann) :

Pour 100 parties	Homme 58 ans	Nouveau-né	Chien vieux	Chien jeune	Lapin	Esturgeon	Carpe
Eau	74,031	82,504	63,276	79,275	56,052	81,816	78,288
Matières organiques	24,866	16,587	35,985	19,829	43,135	16,968	20,370
Sels minéraux	1,103	0,908	0,739	0,812	0,812	1,216	1,342

Ce dernier tableau montre que la quantité d'eau contenue dans le foie est, comme pour les autres glandes, en raison inverse de l'âge du sujet.

Composition du foie (de porc) (d'après Lepinois) :

Substances dosées	Pour 100 de glande	
	fraîche	sèche
Azote total	3,44	11,22
Azote de matières albuminoïdes	2,61	8,50
Azote extractif	0,83	2,72
Eau	69,32	0
Extrait sec à 105°	30,68	100,00
Sels minéraux	1,98	6,45
Substances organiques	28,70	93,54
Matières albuminoïdes totales	16,73	54,53
Matières albuminoïdes solubles dans l'eau	7,36	23,98
Extrait éthéré (matières grasses)	4,94	16,10
Glycose	1,58	5,17
Glycogène	1,95	6,36
Matières extractives	3,40	11,08
Azote dégagé par NaBrO (en urée)	0,21	0,68
Fer (de la glande lavée)	0,020	0,065

Lematte, Boinot et Kahané (7), ont étudié le foie de porc spécialement au point de vue minéral. Voici leurs résultats :

Composition du foie séché en % :

NaOH	0,662
KOH	1,585
$Ca(OH)^2$	0,037
$Mg(OH)^2$	0,142
SO^4H^2	1,404
PO^4H^3	4.835
HCl	0,618
$Fe(OH)^2$	0,057
Azote	10,362

(7) Lematte L., Boinot F. et Kahané E. — Dosage des minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en opothérapie. Journ. Ph. et Ch. [8], 1927, V, p. 325, 361.

III. Teneur en phosphore

En ce qui concerne le phosphore, Javillier et ses collaborateurs (8) ont recherché le phosphore total et le phosphore engagé sous différentes formes dans les tissus animaux et ont établi l'existence effective de plusieurs indices.

Pour le dosage final du phosphore ces auteurs se sont servis de la méthode chorosométrique de Copaux (9).

Résultats : Ces auteurs ont expérimenté sur des échantillons de foie de plusieurs animaux : cheval, porc, bœuf, veau, mouton, et ont trouvé les résultats suivants :

	Dans 100 parties de poudre sèche			
	P. total	P. lipidique	P. nucléique	P. minérale + P. org. indosé
Foie de cheval	1,015	0,422	0,160	0,433
— de porc	1,200	0,454	0,250	0,496
— de bœuf	1,360	0,660	0,119	0,581
— de veau	1,185	0,392	0,204	0,589
— de mouton	1,222	0,572	0,138	0,512

Commentaires et conclusions

Comparant ces résultats avec ceux obtenus pour d'autres organes, Javillier prouve que le foie est notablement riche en phosphore total (1 à 1,4 %), assez riche en phosphore lipoïdique (0,39 à 0,60 %), peu riche

(8) Javillier M., Allaire H. et Mlle Groc. — Sur un principe nouveau pour l'essai des poudres organothérapiques, J. Ph. et Ch., [8], 1925, I, p. 513.

Javillier M,. Allaire H. et Mme Hinglais-Groc. — Analyse de poudres organothérapiques, leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique, Bull. Sc. Pharmacol., 1925, XXXII, p. 641.

(9) Copaux M. — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique, C. R. Ac. Sc., 1921, CLXXIII, p. 656.

en phosphore nucléique (0,1 à 0,2 %), mais les chiffres absolus ne sont pas seulement intéressants par eux-mêmes, les rapports que l'on peut établir entre eux présentent aussi un intérêt et notamment les rapports qu'ils désignent sous le nom de :

Indice du phosphore lipidique, c'est la quantité de phosphore lipidique, exprimé en mg. existant dans 100 gr. de tissus. Puis ils ont établi le

$$\text{rapport} \frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}} \times 100.$$

Il en résulte du tableau suivant :

	$\text{Rapport} \frac{\text{P. lipidique}}{\text{P. total}} \times 100$				
	Cheval	Porc	Bœuf	Veau	Mouton
Foie de	41,5	38,7	48,5	33	50,1

le foie renferme donc une fraction de phosphore sous forme lipidique variant de 33 à 50.1.

L'indice de phosphore nucléique (10), c'est la quantité de phosphore nucléique, exprimée en mg. présente dans 100 gr. de tissu.

$$\text{son rapport est :} \frac{\text{P. nucléique}}{\text{P. total}} \times 100.$$

Il en résulte du tableau suivant :

	$\text{Rapport} \frac{\text{P. nucléique}}{\text{P. total}} \times 100$				
	Cheval	Porc	Bœuf	Veau	Mouton
Foie de	15,7	20,8	8,75	17,2	11,3

Le foie renferme donc une fraction de phosphore sous forme nucléique variant entre 8,75 et 20,8.

Il en reste que ces différents indices ont une certaine valeur pour l'identification et le contrôle des poudres opothérapiques.

(10) Javilier M. et Allaire H — Sur l'existence d'un indice de phosphore nucléique de tissus, Bull. Soc. Chim. Biol., 1926, VIII, p. 924.

DEUXIEME PARTIE

Détermination du P_{H+} de la Poudre du Foie

Nous avons déterminé la concentration en ions H+ de notre poudre. Pour cette détermination, nous avons adopté la méthode colorimétrique qui est basée sur l'emploi d'une série de colorants.

Chacun de ces indicateurs vire dans une zone bien limitée en donnant pour une faible variation de PH toute une gamme colorée.

Nous donnons ci-dessous un tableau de ces indicateurs utilisés par Clark (11) et Lubs qui montrent les limites de leur virage :

---

(11) Guillaumin. — Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H+ des liquides biologiques, Journ. Ph. et Chim., 1922, XXV, p. 175, 221.

Indicateurs de Clark	Noms chimiques usuels	Virage pour le passage de PH à PH	Limites de PH
Tymolsulfone-phtaléine	Bleu de thymol	rouge-jaune	1,2—2,8
Tétra bromophénol sulfone phtaléine	Bleu de bromo-phénol	jaune-bleu	2,8—4,6
O. Carboxybenzène azodiméthylaniline	Rouge de méthyle	rouge-jaune	4,4—6,0
Dibromo-o-crésol sulfone phtaléine	Pourpre de bromocrésol	jaune-pourpre	5,2—6,8
Dibromothymol sulfone phtaléine	Bleu de bromothymol	jaune-bleu	6,0—7,6
Phénol sulfone phtaléine	Rouge de phénol	jaune-rouge	6,8—8,4
Orto - crésol sulfone phtaléine	Rouge de crésol	jaune-rouge-violet	7,2—8,8
Thymol sulfone phtaléine	Bleu de thymol	jaune-bleu	8,0—9,6

Avec ces produits on prépare des *solutions colorantes*, elles s'obtiennent en dissolvant 0 gr. 1 de colorant dans 500 cc. d'alcool à 95° et diluant à 800 cm³ avec de l'eau bi-distillée neutre.

Ces solutions s'emploient à 0 cm³5 pour 10 cm³ de liquide en expérience.

L'eau distillée neutre est obtenue par une première distillation après addition de quelques cm³ d'une solution de bichromate de potassium additionnée elle-même d'acide sulfurique. Cette distillation est suivie d'une seconde en présence de baryte. L'eau distillée ainsi obtenue est conservée en ballon de verre bien fermé. Si l'eau se charge de CO^2 et devient légèrement acide, on la porte à l'ébullition et on laisse refroidir avant l'utilisation.

Technique de la détermination de P_H

On place 0 gr. 50 de poudre d'organe dans 50 cc. d'eau bi-distillée sensiblement neutre (PH=6.6) et on ajoute 5 gouttes de toluène et abandonne à l'étuve à 37° pendant 24 heures. On filtre. En même temps on fait digérer 50 cm^3 d'eau distillée avec 5 gouttes de toluène à l'étuve à 37°. On filtre et détermine la concentration en ions hydrogène de ces filtrats. A cet effet, on se sert des étalons colorés et salins de composition et de PH connus. On détermine d'abord la valeur approximative du PH par l'indicateur nommé rouge-Congo (qui se compose de phénolphtaléine 10 mmg. rouge carmin, 20 mmg. alcool q. s. pour dissoudre, et eau distillée q. s. pour avoir 100 cc.).

Ainsi, nous avons trouvé que la valeur du PH est comprise entre 4 et 8 pour la solution en question. Entre ces deux couleurs extrêmes, on peut observer toute une série de teintes dites sensibles, chacune correspondant à une valeur déterminée de PH.

Nous déposons dans une série de tubes à essais 2 cc. du liquide à essayer et 2 gouttes de chaque colorant. Ces premiers essais nous permettaient d'arrêter notre choix sur le Bromo-Cresol pourpre.

Nous ajoutons à 10 cc. du liquide à essayer 1/2 cm de la solution colorante et comparons la teinte obtenue avec une série de tubes colorés tampons à l'aide d'un support maintenant les tubes inclinés à 35°-45° sur un fond horizontal blanc, suivant le tableau ci-dessous :

Direction des rayons lumineux	Etalon du PH supposé correspondant au PH du liquide à examiner	Eau distillée neutre	Etalon du PH supposé correspondant au PH du liquide à examiner
V	O	O	O
	Liquide à essayer sans indicateur	Liquide à essayer additionné de l'indicateur	Liquide à essayer sans indicateur
	O	O	O
	OBSERVATEUR		

En opérant ainsi nous avons trouvé pour notre échantillon un $P_H = 5.6$.

L'eau bi-distillée additionnée de toluène était parfaitement neutre, c'est-à-dire qu'elle correspondait à un P_H de 6.6.

ÉTUDES DES MATIÈRES MINÉRALES

Recherches qualitatives

Analyse spectroscopique

L'analyse spectroscopique a été faite sur les cendres de la poudre de foie, avec des électrodes en charbon purifié ; cet examen nous a permis de constater la présence des métaux suivants :

1. Sodium
2. Potassium
3. Calcium
4. Magnésium
5. Manganèse
6. Fer
7. Cuivre
8. Zinc
9. Nickel
10. Cobalt
11. Arsénic
12. Titane

Nous avons procédé au dosage de ces métaux en utilisant les méthodes les plus récentes et les plus précises.

Mais auparavant, nous avons déterminé la teneur de la poudre de foie en *eau, cendres solubles, cendres insolubles, alcalinité des cendres* et en *chlorures.*

Recherches quantitatives

Dosage de l'humidité

Nous avons dosé l'humidité en chauffant à 105° 5 grammes de poudre de foie, jusqu'à poids constant.

L'échantillon étudié contient 10,2 % *d'humidité.*

Dosage des cendres

a) *Dosage des cendres solubles*

Pour cela, nous avons eu recours à la méthode indiquée par Fabre et Penau (12), qui consiste à faire un extrait aqueux de la substance préalablement calcinée à la lampe à alcool. Les extraits réunis sont évaporés et desséchés.

100 *grammes de poudre de foie renfermant 2,40 gr. de cendres solubles.*

b) *Dosage de cendres insolubles*

Le résidu charbonneux du dosage des cendres solubles est séché et calciné au moufle, 100 grammes de poudre de foie contiennent 2,56 *gr. de cendres insolubles.*

c) *Dosage des cendres totales*

La somme des cendres solubles et insolubles nous donne le poids des cendres totales renfermées dans l'extrait de foie, *il est de* 4,96 %.

d) *Dosage de l'alcalinité*

Ce dosage a été pratiqué sur les cendres insolubles ; à cet effet le résidu est traité par un excès d'acide sulfurique décinormal, porté au B.M. puis filtré. L'excès d'acide sulfurique est dosé par une solution de soude décinormale en présence d'hélianthine comme indicateur.

L'alcalinité est exprimée en carbonate de soude, elle est pour le foie étudié *égale à 0,40 % calculé en carbonate de sodium.*

---

(12) Fabre R. et Penau H. — Examens chimiques généraux des poudres opothérapiques, Journ. Ph. et Chim., [8], 1923, XXVII, p. 281.

Dosage des chlorures

Le résidu salin (cendres solubles) est redissous dans l'eau distillée aiguisée par l'acide azotique à 5 %. On ajoute à cette liqueur un excès de nitrate d'argent décinormal.

L'argent en excès est titré à l'aide d'une solution de sulfocyanure de potassium décinormale en présence d'alun de fer, suivant la méthode de Charpentier-Volhard.

La quantité de chlorure de sodium trouvée dans 100 grammes de poudre de foie *est* 0,71 *gr.*

ÉTUDE DES MÉTAUX

Introduction

Les éléments que l'on rencontre dans les cellules végétales et animales peuvent être scindés en deux groupes :

Ce sont d'abord les matières fondamentales telles que : protides, glucides, matières grasses qui, avec l'eau, forment la plus grande partie de ces cellules et comptent parmi ceux auquels G. Bertrand réserve le nom de *plastiques*, pour bien rappeler que leurs combinaisons, constituent la masse des tissus. A côté, certains éléments n'existent qu'en très petites quantités, souvent même à l'état de traces, c'est à ces derniers que G. Bertrand réserve le nom *d'infiniments petits chimiques* ou *éléments catalytiques*, nom qui évoque le mode d'action qu'on est conduit à leur attribuer.

Jusqu'à une époque relativement récente, il était admis que parmi les corps simples connus, un petit nombre seulement, une douzaine environ entrent d'une façon constante dans la constitution des êtres vivants. C'étaient l'hydrogène, le carbone, l'azote, l'oxygène, le phosphore, le soufre, le chlore, le silicium, le potassium, le sodium, le magnésium et le fer.

Les perfectionnements apportés aux méthodes de la chimie analytique et l'utilisation de l'analyse spectrale ont permis, depuis un certain nombre d'années, de déceler dans les cendres des tissus végétaux et

animaux, la présence de corps existant en minime quantité, même à doses extraordinairement faibles qui, cependant, « constituent des éléments physiologiques aussi nécessaires au métabolisme général tels que le carbone, l'hydrogène et l'azote » (selon l'expression de G. Bertrand).

De nombreuses expériences ont montré, d'une façon décisive, que les matières minérales sont indispensables à l'entretien de la vie.

De même les recherches plus récentes sur le rôle physiologique de composés rares, ont élargi considérablement nos connaissances sur certains processus vitaux.

De nombreuses recherches, dans ce domaine, montrent bien l'importance qui s'attache à l'étude des infiniments petits chimiques et il y a lieu de n'en négliger aucun, bien qu'il n'y existe qu'à l'état de traces.

Destruction de la matière organique en vue de la recherche et du dosage des matières minérales dans la poudre de foie

Procédés de destruction des matières organiques

Avant de passer au dosage de métaux et métalloïdes dans notre poudre de foie, indiquons tout d'abord les procédés de destruction des matières organiques, opération préalable et nécessaire pour la recherche et le dosage de ces matières minérales.

Ce sont avec quelques modifications de détail ceux de Lematte, Boinot et Kahané (13).

Ces auteurs ont employé comme agents de destruction d'une part un mélange d'acide azotique et d'acide perchlorique, d'autre part un mélange d'acide sulfurique et perchlorique avec les modes opératoires suivants :

a) *Destruction au moyen du mélange d'acide azotique et d'acide perchlorique*

Un gramme d'organe est introduit dans un ballon en pyrex de 250 cc. dans lequel on a mis 10 cc. du mélange suivant :

Acide azotique fumant (d. 1.49).....	100 cc.
Acide perchlorique (d. 1,615).....	50 —
Eau distillée	100 —

(13) Lematte L., Boinot G. et Kahané E. — Journ. Ph. et Chim., [8], série 5, 1927, p. 333.

Le mélange est chauffé avec précaution, la substance se dissout rapidement. On continue jusqu'à ce que la solution devienne incolore. L'opération est alors terminée. Elle exige 10 à 15 minutes.

Ce procédé est rapide, mais il expose à des pertes de substance et n'est pas sans danger ; en effet, des projections en dehors du ballon peuvent se produire avec, parfois, inflammation de la substance et même explosion.

On évite ces accidents en faisant macérer pendant 5 minutes la poudre d'organe dans le liquide acide et en agitant de temps en temps.

On chauffe ensuite quelques minutes, le mélange mousse fortement. On cesse de chauffer, la mousse tombe. On peut alors chauffer fortement jusqu'à la décoloration du liquide. Toute cette opération dure de 40 à 45 minutes. Pour le dosage des métaux on peut facilement évaporer à sec afin d'éliminer l'excès d'acide libre. On étend avec l'eau à volume déterminé si on veut prélever une partie aliquote pour le dosage.

b) *Destruction par le mélange d'acide sulfurique et d'acide perchlorique*

Principe : Par l'emploi d'un mélange en proportions convenables d'acide sulfurique et d'acide perchlorique, le carbone et le phosphore sont oxydés, l'azote est transformé en ammoniaque.

Mode opératoire : Dans un ballon Kjeldahl en pyrex de 250 cc., introduire 50 cc. d'un mélange fait dans les proportions de :

Acide sulfurique pur à 66°	350 cc.
Acide perchlorique pur (d. 1,815)	650 —

Introduire quelques billes de verre dans le fond du ballon pour régulariser l'ébullition. Peser 10 grammes de poudre d'organe, les diviser en 5 parties de 2 grammes environ, ajouter une prise au mélange oxydant, chauffer au bain de sable lentement jusqu'à désagrégation, la masse noircit et mousse. Laisser refroidir 2 minutes, ajouter une deuxième prise, répéter les mêmes opérations jusqu'à ce que les 10 grammes soient introduits. A partir de ce moment chauffer à feu nu au bec Bunsen. La liqueur noire se décolore peu à peu et devient tout à fait incolore. Continuer à chauffer jusqu'à l'apparition de vapeurs blanches d'acide sulfurique.

Ce résultat est obtenu selon la nature des organes dans un temps variant entre 30 et 60 minutes. En suivant cette technique, l'emploi de l'acide perchlorique est sans danger.

Dans nos essais, nous avons constaté qu'au lieu d'ajouter la poudre d'organes par petites portions (comme le font les auteurs de la méthode) on peut éviter cette dernière opération qui expose à des pertes de substance, en introduisant la *totalité* des 10 grammes de poudre d'organes dans le ballon de Kjeldahl dans lequel on a mis préalablement 50 cc. du mélange acide. On agite le tout de façon à former une bouillie homogène. On laisse macérer pendant quelques minutes en agitant de temps en temps. On chauffe. Il se forme une mousse abondante. On cesse de chauffer, la mousse tombe peu à peu. On agite le matras pour faciliter la chute de la mousse. Dès ce moment chauffer fortement jusqu'à la décoloration du mélange.

En suivant cette technique, l'emploi de l'acide perchlorique ne nous a jamais causé d'accidents, les manipulations sont plus aisées et la destruction complète nous a demandé 35 à 40 minutes.

Ces deux procédés nous ont toujours conduit à des résultats concordants ; ils ont même valeur et nous les avons utilisés indifféremment pour l'étude des matières minérales dans la poudre de foie.

1. Dosage du sodium

Pour le dosage du sodium, nous nous sommes décidés pour la méthode de Blanchetière (14) qui consiste à former un acétate triple d'uranium, de magnésium et de sodium

$$3(C^2H^3H^2)^2UO^2,(C^2H^3O^2)^2Mg,(C^2H^3O^2)Na,9H^2O$$

qui est insoluble dans le milieu où il se forme et dans l'alcool à 95°. Par contre, l'alcool dissout parfaitement les acétates d'uranyle et de magnésium du réactif.

---

(14) Blanchetière A. — Sur une méthode de dosage de sodium, Bull. Soc. Chim., 1923, XXXIII, p. 807.

Cette méthode a été discutée dans de nombreux travaux et en particulier dans ceux de Laudat (15), Grabar (16), et de Kahané (17) ; ces auteurs se sont attachés à démontrer les grandes erreurs qui peuvent se produire au cours d'une exécution défectueuse de la technique prescrite.

Mais il y a lieu de faire observer que la présence des métaux autres que le sodium dans les cendres ne trouble pas le dosage. L'acide phosphorique seul est un élément perturbateur, on doit donc l'éliminer.

Il faut, au préalable, détruire les matières organiques. Nous avons employé pour ce but le mélange oxydant d'acide azotique fumant, d'acide perchlorique et d'eau distillée (18). On chauffe avec précaution jusqu'à ce que la solution devienne incolore. On évapore l'excès d'acide et on neutralise alors avec de l'ammoniaque, et on chauffe au B.M. On filtre le précipité (constitué par les oxydes hydratés de métaux lourds), on le lave avec de l'eau soigneusement, ensuite on porte la solution à 25 cc dans un flacon jaugé. 20 cc de cette liqueur sont centrifugés. On précipite l'acide phosphorique par un excès connu de liqueur acétique d'acétate d'urane, que l'on mélange et abandonne jusqu'à floculation nette. A ce moment on centrifuge de nouveau, on prélève une fraction aliquote et on l'introduit dans 10 fois son volume de réactif urano-magnésien. On laisse reposer. On filtre et lave le précipité comme l'ont indiqué les différents auteurs mentionnés ci-dessus. On dessèche à l'étuve à 110°, laisse refroidir et pèse. 1 gramme de précipité correspond à 0,015 gr. de sodium.

Nous avons ainsi trouvé 0,57 *de sodium dans* 100 *gr. de poudre de foie étudiée, ou* 0,768 % *gr. exprimés en oxyde de sodium* (Na^2O).

(15) Laudat M. — Etude des méthodes récentes de dosage du sodium et de leurs applications à la biologie, Bull. Soc. Chim. Biol., 1928, X, p. 757.

(16) Grabar P. — Microméthode de dosage du sodium dans les milieux biologiques, Bull. Soc. Chim. Biol., 1929, XI, p. 58.

(17) Kahané F. — Le dosage du sodium par la méthode à l'uranyle, Bull. Soc. Chim. de France, 1930, XLVII, p. 193 et 382.

(18) Lematte L., Boinot G. et Kahané E. : l. c.

2. Dosage du Potassium

Pour le dosage du potassium, nous avons eu recours au procédé de Garola et Braun (19), qui consiste essentiellement à faire agir le cobaltinitrite de sodium sur le potassium, ce qui donne du cobaltinitrite de potassium.

Après la destruction des matières organiques, la solution parfaitement limpide est débarrassée des autres bases par le carbonate de sodium. Le filtrat est concentré à petit volume, acidifié par l'acide acétique et additionné d'un excès de réactif de nitrite cobalti-sodique. Le mode opératoire est très important pour assurer la fixité de la composition de précipité. Ce dernier répond à la formule K. Na. Co. $6NO^2$. H^2O. Le précipité est laissé au repos 12 heures en vase bien bouché, ensuite, nous avons filtré dans un creuset taré de Gooch. Le précipité est lavé avec de l'eau distillée additionnée de 10 % d'acide acétique jusqu'à ce que le liquide passe parfaitement incolore, puis une fois avec l'alcool à 95°, afin d'enlever l'eau et de faciliter la dessiccation. Le creuset est desséché à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant et pesé. En tenant compte des poids moléculaires, le poids du précipité est multiplié par le facteur 0,2074, représentant le p. m. de sel cobaltique potassique.

Nous avons constaté que 100 *gr. de poudre de foie étudiée renferment* 1,394 *gr. de potassium exprimé en oxyde de potassium* (K^2O).

3. Dosage du Calcium

Pour doser le calcium, nous nous sommes adressés au procédé Lematte Boinot et Kahané (20), qui est basé sur le fait que les sels de calcium donnent avec l'acide oxalique ou les oxalates, un oxalate insoluble dans l'eau. Au moyen d'une solution de permanganate de potassium, nous avons déterminé volumétriquement la quantité d'acide oxalique et, par voie de conséquence, la chaux qui lui était combinée.

---

(19) Garola et Braun. — Dosage pondéral de la potasse, Annales des Falsifications, 1917, p. 572.

(20) Lematte L., Boinot G. et Kahané E. — Journ. Ph. et Chim., 1927, V, p. 325, 361.

La matière organique a été détruite par l'acide azotique et l'acide perchlorique, la solution limpide, additionnée d'hélianthine est précipitée par de l'ammoniaque. On dissout ce précipité dans une solution saturée à chaud de chlorure d'ammonium et de citrate d'ammoniaque. On ajoute alors 2 cm³ d'une solution d'acide oxalique et on fait virer au rouge l'hélianthine par l'acide chlorhydrique. On ramène à la neutralité par l'ammoniaque, puis ajoute, goute à goutte, 2 cm³ d'une solution bouillante d'oxalate d'ammoniaque. Le précipité est alors très dense et tombe facilement au fond du vase. On laisse déposer pendant quatre heures. Le précipité est alors à l'état de grains cristallisés suffisamment gros, pour ne pas traverser le filtre et, par conséquent, pour être retenu par ce dernier.

Pour qu'il en soit ainsi, il est nécessaire de prendre toutes les précautions indiquées. Le précipité d'oxalate de chaux est dissous dans de l'acide sulfurique à 6 % et titré par une solution de permanganate de potasse à 0,160 gr. pour 1.000 cc. 1 cm³ de cette solution correspond à 1 mmg de CaO ou à 1.321 mgr de Ca $(OH)^2$.

Nous avons ainsi constaté que 100 *gr. de notre poudre de foie contiennent* 35 *mmg.* 4 *de CaO.*

4. Dosage du Magnésium

La solution privée de la chaux et neutralisée par la soude, est acidifiée par l'acide chlorhydrique, additionnée de phosphate de soude et d'un excès d'ammoniaque. Il y a formation d'un précipité de phosphate ammoniaco-magnésien qui, par calcination se transforme en pyrophosphate de magnésium. On pèse, le poids du précipité multiplié par 0,21839 donne en magnésium le résultat ; par 0,3620 celui en MgO.

100 *gr. de poudre de foie étudiée renferment* 0,110 *gr. de MgO.*

5. Dosage du Manganèse

Depuis les remarquables travaux de MM. G. Bertrand, Jadin et Astruc, le manganèse tient une place prépondérante parmi les éléments minéraux, dont le rôle activateur des phénomènes enzymatiques est bien connu. Cet « excitateur d'oxygène », selon l'expression de G. Bertrand,

a été trouvé dans toutes les plantes qu'ont étudiées ces divers auteurs (21) et plus récemment M. Garnier (22).

Le dosage est effectué selon la technique indiquée par G. Bertrand (23), elle consiste à transformer le manganèse en permanganate par oxydation au moyen de persulfate de potassium et de l'acide nitrique en présence d'azotate d'argent, et à comparer l'intensité de la coloration obtenue, avec une gamme de solutions étalons contenant des quantités connues de manganèse semblablement traité. Dans un tube à essai gradué, on dissout les cendres dans 3 cc. d'acide nitrique, étendu au préalable de trois volumes d'eau. On ajoute 5 gouttes de solution de nitrate d'argent au 1/10, puis, 2 décigrammes de persulfate de potassium en poudre fine. On complète à 10 cm³ avec l'acide nitrique au quart et l'on chauffe doucement. Il apparaît une teinte variant du rose au violet. On porte graduellement à l'ébullition pour décomposer l'excès de persulfate, jusqu'à ce que le dégagement d'oxygène ait cessé. On bouche le tube.

Pour le dosage colorimétrique, une solution mère est préparée renfermant 5.054 gr. de sulfate de manganèse ($MnSO^4.4H^2O$), soit 1 mmg de sel par cm³. Avec cette solution mère on prépare deux dilutions, A au 1/10 et B au 1/100 en plaçant dans une série de tubes à essais des quantités exactement mesurées de ces dilutions et en les traitant à l'ébullition par le persulfate de potassium et le nitrate d'argent, en présence d'acide nitrique, on établit une série de tubes qui forment une gamme colorée à laquelle on compare le tube contenant la manganèse à doser.

En multipliant les essais comparatifs, l'approximation peut être poussée jusqu'à une sensibilité extrême. Cette méthode ne réussit qu'avec des solutions extrêmement diluées en manganèse.

Nous avons, par cette technique, décelé 1 *mgr.* 25 *de manganèse pour* 100 *gr. de poudre de foie.*

---

(21) G. Bertrand. — Bull. Soc. Chim., 1911, IX, p. 361 ;
F. Jadin et A. Astruc, C. R. Ac. Sc., 1912, CLV ;
G. Bertrand et Mme Rosenblatt, C. R. Ac. Sc., 1921, CLXXIII, p. 333.

(22) Garnier M. — Le rôle biologique du manganèse, Thèse Doct. Pharm., Nancy 1928.

(23) Bertrand G. et Thomas P. — Guide pour les manipulations de chimie biologique, 1919, p. 31.

6. Dosage du Fer

Le fer est très répandu dans le règne animal. Chez l'homme et chez certains animaux, le sang renferme une quantité notable de fer sous la forme d'hémoglobine.

Nous avons procédé au dosage de cet élément par la méthode de Scagliarini et Pratesti (24). Elle consiste en une réduction quantitative du $Fe^{\cdots}$ en $Fe^{\cdot\cdot}$ par le cuivre métallique en présence d'acide sulfurique, et réoxydation ultérieure au moyen du permanganate de potassium.

Nous avons effectué la destruction des matières organiques de notre poudre de foie, suivant la technique énoncée lors du dosage du sodium. La solution ferrique est mise dans un vase de 800 cm^3 contenant 250 cc. d'eau distillée. On ajoute 15 cc. d'acide sulfurique concentré et on chauffe. Quand le liquide entre en ébullition, on introduit une spirale de cuivre attachée à une baguette de verre. On continue l'ébullition pendant un quart d'heure, puis on enlève la spirale, lave à l'eau distillée et on laisse refroidir en ayant soin d'ajouter quelques cristaux de carbonate de sodium.

On étend avec de l'eau jusqu'à 400 à 500 cm^3 et on titre à froid avec du permanganate de potassium N/20 dont chaque centimètre cube correspond à 0,0028 gr. de fer.

Nous avons trouvé ainsi dans 100 *gr. de poudre de foie* 0,216 *gr. en* Fe^2O^3.

7. Cuivre, Zinc, Nickel et Cobalt

Cuivre : On avait longtemps considéré la présence du cuivre dans l'organisme animal et végétal, comme accidentelle. Mais, à la suite de nombreux travaux (25), on avait reconnu que les êtres vivants en renferment à l'état normal.

---

(24) Scagliarini G. et Pratesti P. — Méthode rapide de dosage de fer. Ann. Chim. Applicat., 1921, XIX, cité par Bull. Soc. Chim. Biol., 1919, XXXXVI, p. 1156.

(25) Dubois, Raphaël. — Sur le cuivre dans la série animale, C. R. Soc. Biol., 1900, II, p. 392 ;

L. Maquenne et E. Demoussy. — C. R. Acad. Sc. CLXX, p. 87 et Bull. Soc. Chim., 27, 1920, IV, p. 266.

Guérithault. — Recherche sur la présence du cuivre chez les végétaux et dans l'organisme humain à l'état normal et pathologique (cancer), Thèse Doct. Pharm. Paris, 1927.

Universellement répandu dans la terre, ce métal s'accumule chez les végétaux, de préférence là où il y a davantage d'eau, c'est-à-dire aux points qui possèdent la plus grande activité vitale. Les organes se dessèchent en vieillissant, s'appauvrissent en cuivre pour le céder à ceux qui naissent et se nourrissent de leurs réserves. On peut dire que le cuivre chez les végétaux est un élément essentiellement diffusible et migrateur.

Chez les animaux, les globules de sang en contiennent trois fois plus que le plasma. Ces résultats sont à approcher de ceux obtenus pour le zinc ; mais pour le cuivre, les différences sont moindres entre le plasma et les globules.

D'après Guérithault, il n'y a pas de différence en teneur en cuivre, entre l'état normal et l'état pathologique. La prolifération cancéreuse, en particulier, ne semble pas due à une carence en cuivre comme certains auteurs l'ont fait supposer.

Le zinc : Le zinc, d'une importance capitale dans l'alimentation des animaux (26), se rencontre en proportions notables et d'une façon constante dans les tissus. La teneur en zinc varie non seulement d'un organe ou d'un tissu à un autre, mais elle varie encore dans le même organe suivant l'individu. L'influence de l'âge se fait également sentir.

D'après Bertrand et Vladesco, ce métal intervient chez les vertébrés dans la fonction de reproduction et sans doute aussi dans le processus de régulation et de sécrétion interne. D'autre part, Delezenne a montré la richesse des venins en zinc et le rapport entre la teneur en métal et la toxicité.

Nickel et cobalt : Le nickel et le cobalt existent partout dans la terre arable. Une certaine proportion de ces métaux est absorbée par les plantes et se répand dans tous les organes.

Ainsi engagés dans la matière vivante, le nickel et le cobalt ne peuvent manquer de s'introduire par l'alimentation dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Les travaux de G. Bertrand et M. Machebœuf (27), ont montré que le cobalt et le nickel, associés l'un à l'autre, se trouvent dans plusieurs organes de l'homme et des animaux. Chez les animaux, on retrouve plus de cobalt que de nickel, c'est l'inverse chez les végétaux.

---

(26) Bertrand et Benzon. — Sur l'importance du zinc dans l'alimentation des animaux, expériences sur la souris, C. R. Acad. Sc., 1922, CLXXV, p. 289.

(27) G. Bertrand et M. Machebœuf.— Sur la présence de Nickel et du Cobalt chez les végétaux et animaux, C. R. Ac. Sc., CLXXX, p. 1380, 1933, cité par Bull. Soc. Chim., XXXVIII, p. 1365, 1925.

Dosage du Cu. Zn. Ni. Co.

Nous avons préféré détruire la matière organique en milieu liquide. La méthode utilisée est celle de G. Bertrand (28), ensuite nous avons séparé d'un coup ces métaux du mélange complexe, on les dosent ensuite séparément en appliquant les méthodes préconisées par G. Bertrand et M. Javillier (29), et par G. Bertrand et M. Morkagnatz (30). Le cuivre est dosé par la méthode de Maquenne de Demoussy (31).

La poudre du foie est introduite dans un matras à long col, on chauffe jusqu'à ébullition avec 100 gr. d'acide sulfurique pur, dans lequel on a laissé couler peu à peu 100 gr. d'acide azotiqe. Lorsque la destruction des substances organiques est complète, la solution acide est évaporée à sec dans une capsule de porcelaine.

Le résidu est arrosé d'HCl concentré, on évapore, on reprend par l'eau acidulée par l'acide chlorydrique, on filtre.

Le filtrat est versé dans de l'ammoniaque pur et en quantité telle que le mélange final renferme 20 à 25 % de la solution ammoniacale saturée. On ajoute de l'eau oxygénée pour peroxyder le Mn et assurer sa précipitation. On filtre, on redissout le précipité dans de l'acide chlorhydrique concentré et on recommence la précipitation par l'ammoniaque et l'eau oxygénée. On réunit les liqueurs ammoniacales, on les porte à l'ébullition, on ajoute quelques gouttes de phénolphtaléine, et on y introduit peu à peu une quantité de lait de chaux suffisante pour libérer totalement l'ammoniaque combiné, on maintient l'ébullition jusqu'à ce que les vapeurs ne bleuissent plus le papier de tournesol et que la liqueur soit rose, sinon on ajouterait à nouveau un lait de chaux (opération très importante).

---

(28) Bertrand et Vladesco — Recherche sur la répartition du zinc dans l'organisme du cheval. Bull. Soc. Chim., 1921, XXIX, p. 53.

(29) G. Bertrand et M. Javillier. — Sur une méthode permettant de doser de très petites quantités de zinc, Bull. Soc. Chim. de Paris, 1908, III, p. 115.

(30) G. Bertrand et M. Morkagnatz. — Sur une méthode permettant de séparer quantitativement d'un mélange complexe de très petites quantités de cuivre de zinc, de nickel et de cobalt, Bull. Soc. Chim., 1923, XXXII, p. 1539.

(31) Maquenne et Demoussy. — Bull. Soc. Chim., [4], 1919, XXV, p. 272 et 1920, XXVII, p. 266.

Quand tout l'ammoniaque est éliminé on redissout le précipité adhérent aux parois et celui qui est contenu sur le filtre avec de l'acide chlorhydrique à 1/10. Après lavage, le filtre est séché et brûlé, les cendres sont dissoutes dans un peu d'acide chlorhydrique. On évapore presque à sec, reprend par l'eau et réunit le liquide à la solution principale. La solution chauffée légèrement est traitée par un courant d'hydrogène sulfuré, puis abandonnée plusieurs heures, bouchée pour que le sulfure de cuivre flocule complètement. Après centrifugation prolongée, on dissout le sulfure de cuivre recueilli sur un petit filtre dans une petite quantité d'acide nitrique pur, on évapore, on calcine le nitrate de cuivre formé dans une petite capsule de quartz, on redissout l'oxyde résiduel dans 3 gouttes d'acide chlorhydrique pur.

On fait passer la solution dont le volume y compris les eaux de lavage ne doit pas dépasser 2 cm^3; dans un tube de petit calibre bouché; on ajoute 2 gouttes de solution de sulfate de zinc à 1.1 % et après agitation 1 goutte de ferrocyanure de potassium à 10 % ; agiter alors une minute, laisser au repos une demi-heure et centrifuger pour rassembler le précipité dont la coloration est comparée avec celles des précipités obtenus dans les mêmes conditions et contenant des quantités connues de cuivre (par exemple une solution de sulfate de cuivre titré 5 milligrammes de cuivre métallique pour 100 cm^3), on peut constituer par exemple une série de 20 tubes de 1/200 à 20/200 de milligrammes. Outre le 1/200 et le 1/100 de milligramme, 10 tubes ayant entre eux une différence de 1/2000 de milligramme, etc...

Le volume évalué en gouttes qu'il faut employer de cette dernière solution pour obtenir la même teinte fait connaître à 2 ou 3 millièmes de milligramme près la quantité de cuivre cherche.

Nous avons ainsi trouvé pour 100 *grammes de poudre de foie étudiée* 0 *gr.* 0082 *de cuivre.*

B. Le liquide acide, séparé du sulfure de cuivre, est évaporé à sec. Le résidu est repris par de l'eau chaude et filtré dans une petite fiole conique. La capsule et le filtre sont bien lavés. La solution est alcalinisée très légèrement par l'ammoniaque, puis acidulée franchement par l'acide citrique (40 à 50 gouttes par exemple d'une solution d'acide citrique au dixième). La liqueur est alors saturée par l'hydrogène sulfuré, on laisse reposer 24 heures avant de filtrer. Le sulfure est alors dissout dans

l'acide sulfurique au 1/20. La solution est évaporée au B. M. puis à feu nu, dans une capsule de platine. On pèse le sulfate anhydre, dont le poids, multiplié par 0,4025 donne la quantité en Zn.

Nous avons ainsi trouvé dans 100 *grammes de poudre de foie étudiée* 0 *gr.* 022 *de zinc.*

La liqueur citrique débarrassée de cuivre et de zinc, est additionnée d'ammoniaque et de quelques gouttes de sulfure d'ammonium. Après un repos de quelques heures on rassemble le précipité sur un petit filtre, on lave avec de l'eau contenant un peu de sulfhydrate d'ammoniaque en recouvrant l'entonnoir avec un verre de montre. On sèche le filtre et le précipité et on les calcine dans une capsule de porcelaine. Le résidu est dissous dans l'acide chlorhydrique concentré. On évapore pour chasser l'excès d'acide et l'on reprend par l'eau distillée. On verse la solution dans un tube à essais et on porte à l'ébullition, on additionne d'un excès d'une solution alcoolique au 1/100 de dimethylglyoxime et alcalinise par quelques gouttes d'ammoniaque au 1/10 ; il se forme un précipité de nickel glyoxime qui est alors dissous à chaud dans un peu de chloroforme et pesé après évaporation du solvant. Le poids obtenu multiplié par 0,203 donne la quantité correspondante de nickel.

Remarque : Etant donné le poids de nickel difficile à déterminer avec précision à l'aide de la balance, nous avons dû user, pour apprécier ce poids, d'un artifice consistant à redissoudre la combinaison glyoximique rouge vif, rassemblée dans un petit volume de chloroforme (1 cm^3 et même 0 cm^3 5) à laisser évaporer tranquillement à l'air libre et à comparer le résidu avec ceux fournis, dans des conditions semblables de précipitation, d'extraction et d'évaporation par des quantités connues de nickel. De cette manière, on peut évaluer quantitativement 1/500 de milligramme de nickel.

Nous avons ainsi trouvé pour 100 *grammes de poudre de foie étudiée* 0,0004 *de nickel.*

Il ne reste plus qu'à doser le cobalt.

La solution séparée du précipité de nickel-glyoxime est évaporée à sec, l'extrait est calciné à une température modérée, pour détruire la combinaison organique et chasser les sels ammoniacaux. Le résidu est dissous dans HCl concentré. Quand la dissolution est complète, on

transvase dans une capsule plus petite, on évapore à sec et l'on reprend avec le moins possible d'eau distillée. On neutralise par du carbonate de soude, puis on traite par quelques gouttes d'une solution d'azotite de potassium en milieu acétique, un précipité jaune décèle le cobalt que l'on peut doser comparativement avec une solution de titre connu en cobalt, s'il se trouve en quantité suffisante, ou en pesant les cobatinitrite dont le poids multiplié par 0.13 donne le cobalt.

Remarque : Etant donné la faible quantité de métal à déterminer à l'aide de la balance, nous avons opéré comme suit :

L'eau mère, séparée après la précipitation du nickel par le dimethyglyoxime est évaporé à sec et débarrassée, par chauffage au rouge sombre dans un four à moufle, du réactif organique et de l'ammoniaque. Le résidu est redissous à la température du B.M. dans l'acide chlorhydrique concentré, on évapore à sec, on reprend par l'eau et l'on amène la solution, avec l'eau de lavage au volume total de 2 cm³ on ajoute alors 0 cm³ 2 de solution alcoolique de diméthylglyoxime à 1 % et 2 gouttes d'ammoniaque au 1/10ᵉ, le liquide se colore immédiatement en jaune brunâtre s'il renferme 0 milligr. 1 de cobalt, en jaunâtre faible, mais net, s'il en contient 0 milligr. 01.

Après une heure d'attente, car la coloration du début s'affaiblit dans les premiers moments (après environ une demi-heure, la coloration ne change plus, on la trouve égale à celle d'un mélange préparé depuis la veille), on compare la coloration avec celles d'une gamme réalisée à l'aide de solutions titrées de cobalt et diluée convenablement pour avoir toute cette gamme voulue.

La réaction est encore visible avec 0 milligr. 002 de cobalt dissout dans 1 cm³, surtout si l'on opère par comparaison avec un mélange exempt de métal. Avec seulement 0 milligr. 001 de cobalt par cm³, il n'y a plus de coloration, on observe seulement un léger virage perceptible au moment où tombe l'ammoniaque. Par suite de l'affaiblissement de la coloration durant les premiers instants, la sensibilité de la réaction employée dans un but quantitatif se trouve ramenée au minimum de 0 mg. 005 par centimètre cube. A cette dilution, la faible coloration jaunâtre persistante est encore sûrement visible par comparaison avec un liquide sans cobalt.

Nous avons ainsi trouvé pour 100 *gr. de poudre de foie étudiée* 0,0045 *de cobalt.*

8. Recherche de l'Arsenic

Il nous a semblé intéressant de rechercher l'arsenic dans notre poudre de foie, quoique les travaux de A. Gautier montrent que ce métalloïde n'existe dans le foie en quantité telle qu'on puisse le doser.

Nous avons recherché cet élément à l'aide de l'appareil de Marsch, en suivant le procédé employé par MM. Jadin et Astruc. Ces auteurs (32), en 1912, dans une communication à l'Académie des Sciences, élargissant les travaux d'Armand Gautier et de Bertrand sur l'existence normale de l'arsenic dans l'organisme animal, ont fait connaître, en s'appuyant sur l'analyse de plus de 80 échantillons, que l'arsenic se trouvait aussi normalement dans les végétaux. Des résultats de leur expérience, ils ont tiré les conclusions suivantes (33) :

1° L'arsenic constitue un élément important de l'activité protoplasmique ;

2° Une des origines de l'arsenic normal trouvé dans les organes des animaux provient des végétaux qui sont absorbés comme aliments.

La destruction des matières organiques et l'obtention de la solution finale destinée à être introduite dans l'appareil de Marsch furent réalisés selon la technique de A. Gautier, modifiée par G. Bertrand (34).

La poudre de foie est traitée par 120 cc. d'acide azotique concentré très pur et chauffée au bain de sable dans une capsule de porcelaine jusqu'à solubilisation de la matière. La masse liquide est additionnée de 20 cc. d'acide sulfurique concentré pur et chauffée jusqu'à apparition de vapeurs blanches d'acide sulfurique. On ajoute alors 25 cc. d'acide azotique concentré et on poursuit le chauffage jusqu'à carbonisation. Le charbon est pulvérisé, repris par de l'eau bouillante et on filtre; le filtrat brun est réduit par quelques gouttes de bisulfite de soude (pour transformer l'acide arsénique en acide arsénieux plus facilement précipitable par l'hydrogène sulfuré) puis porté à l'ébullition pour chasser l'acide sulfu-

---

(32) Jadin F. et Astruc A., C. R. Ac. Sc., 1912, CLIV, p. 893 et CLV, p. 291.

(33) Jadin F. et Astruc A., Journ. Pharm. et Chim., 1912, VI, p. 529.

(34) Ogier J. et Kohn-Abrest E. — Traité de Chimie Toxicologique, 1924, I, p. 542.

reux formé. Le liquide est ensuite soumis pendant plusieurs heures à un courant lent d'hydrogène sulfuré parfaitement exempt d'arsenic.

Le précipité formé, séparé par filtration, est dissous dans l'ammoniaque au tiers ; la solution ammoniacale est évaporée au B. M. et le résidu de l'évaporation est oxydé par l'acide azotique, puis repris par l'acide sulfurique ; on chauffe pour éliminer l'acide azotique et jusqu'à apparition des fumées blanches. Cette solution sulfurique est introduite dans le flacon producteur d'hydrogène imaginé par MM. Jadin et Astruc, qui assure l'élimination parfaite de l'oxygène et évite ainsi toute perte de l'hydrogène arsénié formé (35). Nous avons, dans ces conditions, obtenu un anneau très peu coloré.

Par conséquent, la quantité d'arsenic contenue dans notre poudre de foie n'existe qu'à l'état de traces.

9. Dosage du Titane

Le titane est très diffusé dans la nature (36). Le dosage du titane dans la solution sulfurique des cendres est effectué d'après la méthode de Weller (37) basée sur la réaction de Schön (38), c'est-à-dire sur la transformation du titane en acide pertitanique de couleur jaune orangé, au moyen de peroxyde d'hydrogène et l'intensité de la coloration est comparée à celle d'une solution étalon.

La poudre de foie a été calcinée dans une capsule de platine. Pour volatiliser tout le silicium, on reprend les cendres par quelques cm^3 d'eau additionnée d'acide sulfurique et d'acide fluorhydrique concentré et l'on évapore à sec au B. M. On chauffe le résidu sur une petite flamme avec quelques cm^3 d'acide sulfurique concentré jusqu'à production de

---

(35) Jadin et Astruc. — Appareil producteur d'hydrogène, pour la recherche de l'arsenic dans la méthode de Marsch. Journ. Pharm. et Chim., 1912, V, p. 233.

(36) Bertrand et Mme Voronca-Spirt. — Recherche sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames et cryptogames, Bull. Soc. Chim., 1929, XXXXV, p. 1044 ; 1930, XXXXVII, p. 102.

Bertrand et Mme Voronca-Spirt. — Recherches sur la présence et la répartition du titane chez les animaux. Bull. Soc. Chim., 1930, XXXXVII, p. 643.

(37) Weller. — Recherche et dosage du titane. Berichte der chem. Gesellsch. 1882, XV, p. 2592.

(38) Schön. — Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds zu molybdän und titansäure. Zs. für analyt. Chem. 1870, IX, p. 41, 330.

fumées épaisses. Après refroidissement, le contenu de la capsule est repris par de l'acide sulfurique dilué et transvasé dans une fiole jaugée de 50 cm³. La dissolution n'a pas été complète, un léger trouble s'est produit qui est dû probablement à du sulfate de calcium.

D'après Walton (39) et Faber (40) la présence d'acide phosphorique empêche la réaction du peroxyde d'hydrogène. G. Bertrand et Mme Voronca Spirt le contestent. Les sels de fer, par contre, gênent la détermination de titane en donnant d'eux-mêmes une coloration jaune. On pare à cet inconvénient en transformant les sels ferriques en complexe incolore par addition convenable d'une solution de phosphate acide de potassium titrée (à 0.25 de sel par cm³). On ajoute cette liqueur à la solution acide des cendres, colorée en jaune jusqu'à décoloration et l'on en tient compte en ajoutant à la solution de titane titrée qui sert de terme de comparaison. Pour le dosage colorimétrique, on prépare une solution étalon, on dissout 0.25 grammes d'oxyde de titane dans un litre d'acide sulfurique à 5 % en chauffant et on ajoute de l'acide fluorhydrique pour faciliter la dissolution.

On verse des volumes croissants et connus dans des tubes contenant la même quantité d'acide phosphorique à l'état de phosphate acide de potassium qui se trouve dans la solution de cendres étudiée.

On ajoute 0.05 cc. d'eau oxygénée et l'on complète avec de l'acide sulfurique à 5 %. D'autre part, on filtre la solution de cendres à travers un filtre préalablement lavé avec quelques cm³ d'acide sulfurique à 5 %. On ajoute un volume connu d'eau oxygénée pure (100 volumes) ; et l'on complète à un volume déterminé avec de l'acide sulfuriuqe à 5 %. La coloration jaune apparaît immédiatement. La méthode est très sensible.

Nous avons constaté que 100 *grammes de poudre de foie renferment* 0.013 *en oxyde de titane* (TiO^2).

---

(39) Walton. — Zs. für analyt. Chem. 1871, IX, p. 41 et 330.

(40) Faber. — Die kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre Anwendbarkeit neben Eisen, Chem. Zeit. 1907, p. 263.

ÉTUDE DES MÉTALLOÏDES

10. Dosage du Soufre

Nous avons dosé le soufre total à l'état de sulfate de baryte. La matière organique a été détruite par un mélange d'acide nitrique fumant, d'eau et d'acide perchlorique. La présence d'acide nitrique et d'acide perchlorique peuvent gêner la précipitation, on les élimine en évaporant la solution limpide à sec avec de l'acide chlorhydrique au B. M. On redissout le résidu par 1 cm^3 d'acide chlorhydrique, on étend la solution avec de l'eau distillée et précipite les métaux trivalents par un excès d'ammoniaque. On verse dans le filtrat très dilué un jet d'une solution normale de chlorure de baryum. On filtre après un repos de 12 heures. On lave le précipité avec de l'eau bouillante jusqu'à ce que les eaux de lavage ne précipitent plus par l'azotate d'argent. On sèche, calcine et pèse. Le poids de sulfate de baryum trouvé, multiplié par 0.42043 donne la quantité d'acide sulfurique (SO^4H^2) contenu dans la prise d'essai ; en multipliant par 0.34326 on exprime les résultats en anhydride sulfurique (SO^3); en multipliant par 0.175 on l'exprimerait en souffre (S).

La poudre de foie étudiée renferme 1.665 *gr. % du soufre calculé en acide sulfurique et* 0.5445 *gr. % en soufre* (*S*).

Ce résultat représente la moyenne de trois dosages.

11. Dosage du Phosphore total

Nous avons dosé le phosphore à l'état de phosphate ammoniaco-magnésien ($Po^4\ MgNH^4$) en calcinant et pesant ce précipité à l'état de pyrophosphate de magnésium, selon la méthode indiquée par Voy (41) ; la matière organique de la poudre de foie a été détruite avec un mélange d'acide azotique fumant, d'acide perchlorique et l'eau distillée. On mélange dans un bècher à précipitation la solution phosphorique neutre ou légèrement acidulée par l'acide nitrique avec de l'azotate d'ammonium et l'acide azotique, on porte à l'ébullition, on fait bouillir dans un autre bècher une solution de molybdate d'ammonium et on réunit les deux liqueurs. Il se forme un précipité de phospho-molybdate d'ammonium jaune, on laisse reposer 15 minutes. On décante la solution surnageante par filtration, on lave le précipité et on le redissout dans de l'ammoniaque à 8 %. On ajoute de nouveau de l'azotate d'ammonium et du molybdate d'ammonium, et on porte à l'ébullition, on ajoute goutte à goutte en agitant constamment de l'acide azotique. Il se forme immédiatement un précipité qui est alors pur, de composition :

$$(NH^4)^3PO^4,12MoO^3.2HNo^3.H^2O.$$

On filtre après 10 minutes, on lave le précipité avec de l'eau contenant 1/20 de son volume de réactif molybdique. On filtre sans chercher à entraîner le précipité sur le filtre. On le redissous avec de l'ammoniaque. Après dissolution complète, on y ajoute un excès de mixture magnésienne acide et on chauffe jusqu'à ébullition. On additionne de quelques gouttes de phénolphtaléine et de solution d'ammoniaque à 2 1/2 % en agitant constamment jusqu'à apparition d'une coloration rose du liquide. S'il se forme un trouble laiteux, on le redissout dans l'acide chlorhydrique. Le précipité qui se forme doit être cristallin dès le début. Pendant la formation du précipité, on ajoute de l'ammoniaque en excès, on laisse alors refroidir. On ajoute à la liqueur le cinquième de son volume d'ammoniaque concentrée et on laisse reposer 12 heures. On filtre, on lave le précipité avec de l'ammoniaque à 2,5 % d'abord par décantation, puis, sur le filtre, on le sèche à 100°, on le calcine en élevant graduellement la température jusqu'à obtention des

(41) F. P. Treadwel. — Manuel de Chimie analytique, II, Dunod 1924, p. 388.

cendres blanches. On pèse après refroidissement. Le poids obtenu, multiplié par le coefficient 0.6396 donne la quantité d'anhydride phosphorique (P^2O^5) correspondant à la prise d'essai. Si on multiplie par 0.8534 on a la quantité de Po^4, et en multipliant par 0.287, le phosphore total.

Nous avons constaté que 100 *gr. de foie renferment* 3,5668 *d'acide phosphorique ce qui correspond à* 2,684 % *de* P^2O^5 *et à* 1,16 *de phosphore total* (P).

Dosage du Phosphore sous ses différentes formes

(*Phosphore lipoïdique, phosphore nucléique*)

Pour le dosage de différentes formes de phosphore sur une même prise d'essai, nous avons suivi la méthode suivante :

a) *Dosage du Phosphore lipoïdique*

La poudre de foie est épuisée au moyen de l'alcool à 95° dans l'appareil à extraction continue de Kumagawa-Suto ; on fait l'extraction pendant 8-9 heures consécutives, le liquide alcoolique est distillé sous pression réduite dans une fiole de Kjeldhal de 200 cc. le résidu est déshydraté par deux affusions successives d'alcool absolu (25 cc. chaque fois), on élimine l'alcool par la distillation. On reprend alors à deux reprises le résidu déshydraté par de l'éther anhydre (25 cc. chaque fois) on ne compte comme phosphore lipoïdique que celui qui passe en solution éthérée. Le liquide éthéré est filtré dans une fiole de Kjeldahl de 100 cc., on distille l'éther, le résidu provenant de cette distillation est soumis à la destruction sulfo-nitrique et la liqueur obtenue sert au dosage du phosphore lipoïdique selon la méthode indiquée pour le dosage du phosphore total.

b) *Dosage du phosphore nucléique*

La poudre dont on a isolé les lipoïdes et qui se trouve dans la cartouche de l'appareil de Kumagawa-Suto est introduite dans un ballon Pyrex (de 250 cc.) à col court et à fond rond et muni d'un réfrigérant à

reflux. On ajoute 50 cc. d'une solution de chlorure de sodium à 15 gr. %, 2-3 billes de verres et on porte à une lente ébullition qu'on maintient 20 minutes.

Pendant toute la durée de cette extraction chlorurée, on ramène dans le liquide, par agitation, les particules de matières qui sont soulevées par la mousse ; on peut détruire la mousse par quelques gouttes d'alcool octylique. On retire le ballon, on ajoute 30 billes de verre et on remplace le réfrigérant par un bouchon fermant bien le flacon et on le soumet à une agitation mécanique pendant 2 heures. On laisse macérer pendant 4 heures, on filtre sur un papier filtre durci, avec l'aide de la trompe à eau.

Ce filtrat sert pour le dosage du phosphore nucléique, on prend 25 cc. de cette solution dans un tube à centrifugation de 50 cc. et en agitant on ajoute 8-10 gouttes d'acide chlorhydrique dilué de moitié. Il se forme un précipité blanc qui précipite et gagne le fond du tube ; après une centrifugation de 30 minutes, on recueille le précipité qui surnage sur un filtre. On lave le tube à centrifugation et le filtre deux fois au moyen d'une pissette avec une solution de chlorure de sodium à 15 %. Une partie du précipité nucléique reste sur le filtre et l'autre se trouve au fond du tube de centrifugation. Le précipité est dissous avec de l'acide sulfurique concentré et introduit dans une fiole Kjeldhal ; on lave le tube à centrifugation avec de l'eau distillée, on procède à la destruction sulfonitrique et on fait le dosage du phosphore nucléique selon la méthode indiquée pour le dosage du phosphate total.

Voici nos résultats obtenus :

Phosphore (P. total)	= 1,16 %	P. lipoïdique	= 0,438	} 0,680
Phosphore (en Po^4H^3)	= 3,5668 %	P. nucléique	= 0,242	
Phosphore (en P^2O^5)	= 2,684 %	P. minéral	=	0,480

Le dosage du Brome et recherche d'Iode

De nombreux travaux ont été faits sur la présence normale du brome dans l'organisme animal.

De tous ces travaux, il reste que le brome n'a été décelé d'une façon certaine que dans quelques organes. Tous les dosages donnés manquent

de précision et, par conséquent, il reste une grande incertitude sur le rôle et la répartition de cet élément dans l'organisme (42).

M. A. Damiens (43) a repris l'étude sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. Il a fait de nombreuses analyses, de plusieurs organes de l'homme et de quelques animaux et il a reconnu l'existence normale et constante du brome dans tous les organes examinés. Il était intéressant de rechercher ce même élément dans notre poudre de foie. Nous avons employé la même méthode que l'auteur nommé ci-dessus, notamment la réaction et les modes opératoires adoptés par MM. Denigès et Chelle (44). La sensibilité de cette méthode est grande, la limite étant 0.005 mgr de brome dans 10 cm^3 de solution examinée. Le dosage se fait colorimétriquement.

Nous avons, par la technique de ces auteurs, décélé 0.00105 *gr.* % *de brome.*

Le même mode opératoire nous a permis, au cours de nos recherches de brome, de constater **l'absence d'iode.**

---

(42) Cette étude a fait l'objet d'une publicité détaillée. Bull. Sc. Pharmacol., XXVII, 1920, p. 609.

(43) A. Damiens. — Sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. — Bull. soc. chim. biol., III, 1921, p. 95.

(44) Denigès et Chelle. — C. A. Ac. Sc., CLV, p. 1010, 1912 et Bull. Soc. Pharmacie de Bordeaux, LV, p. 75, 1917.

CONCLUSIONS

Dans le métabolisme qui se passe dans l'intimité de nos tissus, nous ne savons pas à quel radical azoté ou hydrocarboné les différents métaux sont combinés. Nous ne savons pas non plus comment les métaux sont soudés dans les produits de décomposition intraorganique. Aussi, nous pouvions calculer nos résultats empiriquement en rapportant le poids des métaux à leur oxyde le plus habituel, et les métalloïdes à leur acide correspondant.

Il faut remarquer la richesse particulière de notre poudre de foie en fer, en potassium, en soufre et en phosphore.

Composition du foie de porc pour 100 gr. d'organe sec :

Eau distillée (H^2O)	10,2
Cendres solubles	2,40
Cendres insolubles	2,56
Cendres totales	4,96
Alcalinité (en CO^3Na^2)	0,40
Chlorure de sodium (Nacl)	0,71
Oxyde de sodium (Na^2O)	0,768
— de potassium (K^2O)	1,394
— de calcium (CaO)	0,0354
— de magnésium (MgO)	0,110
— de manganèse (MnO^2)	0,00198
— de fer (Fe^2O^3)	0,216
— de cuivre (CuO)	0,0082
— de zinc (ZnO)	0,00241
— de nickel (NiO)	0,000508
— de cobalt (CoO)	0,000571
— d'arsenic	traces
— de titane (TiO^2)	0,0013
Acide sulfurique (So^4H^2)	1,665
— phosphorique (PO^4H^3)	3,5668
— chlorhydrique (ClH)	0,44
— bromhydrique (BrH)	0,001215
— jodhydrique (JH)	néant

DOSAGE DES LIPIDES

On désigne sous le terme « lipides » les matières grasses, et les éthers sels, possédant des propriétés analogues (lécithines, phosphatides). Ces corps sont extrémement répandus dans les tissus et les humeurs. André Mayer et G. Schaeffer (45) ont montré que le rapport de cholestérine aux acides gras ou coefficient lipocytique est caractéristique de l'organe considéré et que la teneur d'une même substance en acide gras et cholestérine varie peu, de sorte qu'il y a une *constante lipocytique*.

Il nous a paru intéressant de rechercher quelle était la teneur de notre échantillon en acides gras et en cholestérine. Pour cela, nous avons suivi la technique de Lameland (46). Cette méthode consiste essentiellement à épuiser la matière par de l'alcool bouillant dans le but de dissoudre les lipoïdes, puis à déterminer quantitativement les proportions des parties insaponifiables et saponifiables que la substance renferme.

Nous avons opéré sur 4 à 5 grammes de poudre.

A. Epuisement par l'alcool à 95° dans l'appareil de Kumagawa-Suto

Les travaux antérieurs faits par plusieurs auteurs, en particulier par MM. Terroine (47), Lobstein (48) ont prouvé que l'appareil de Kumagawa-Suto a de grands avantages sur celui de Soxhlet pour extraire les lipides de tissus animaux.

(45) Mayer A. et Schaeffer G. — Recherche sur la teneur des tissus en lipoïdes. Journ. de Physiologie et Pathologie générale, 1913, XV, p. 510, 534 et 775.

(46) Lemeland M.-P. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. Bull. Soc. Chim. Biol. 1921, III, p. 163 et dito 1923, V, p. 111.

(47) Terroine F., Lesage G., Vehot G. et Wolff H. — La détermination des matières grasses dans les produits végétaux. Annales de falsification, 1927, p. 793

(48) Lobstein E. — Recherches biochimiques sur le Bacille tuberculeux. Thèse Doct. ès Sc. Strasbourg, 1922.

En effet, la cartouche qui renferme la poudre à épuiser est placée directement dans les vapeurs mêmes du solvant et l'épuisement se fait donc sensiblement à la température d'ébullition de celui-ci. La poudre est placée dans la cartouche d'un appareil de Kumagawa-Suto et macérée dans l'alcool à 95° à froid pendant 12 heures puis, épuisée par l'alcool à 95° bouillant pendant 8 heures. La durée du chauffage est largement suffisante car, au bout de 4 heures, l'alcool obtenu par siphonage était décoloré et après 6 heures ne laissait aucune trace de résidu après évaporation.

Les solutions alcooliques sont réunies, évaporées sous pression réduite en s'aidant du vide à une température ne dépassant pas 60° dans un ballon à fond rond de grande capacité. Au moment où il ne reste plus dans le ballon que 4-5 cc. on interrompt l'évaporation et on introduit dans le ballon 10 cc. d'alcool absolu, en rinçant le col et les parois ; on refait le vide et à ce moment seulement, on plonge le ballon dans l'eau bouillante en agitant constamment ; en 2-3 minutes, on obtient un résidu très sec et formant une mince couche sur les parois du ballon. L'extrait alcoolique est de couleur brune.

B. Saponification de l'extrait alcoolique

Ce dernier est traité dans un ballon extracteur par 25 cc. de potasse alcoolique 2N et chauffé pendant 2 heures au réfrigérant à reflux sur un bain de sable. On cesse de chauffer, et on abaisse le titre alcoolique à 50° environ, en ajoutant 20 cc. d'eau distillée. On chauffe de nouveau jusqu'à clarification complète et on laisse refroidir.

C. Extraction de l'insaponifiable

On fait passer tout le liquide dans une ampoule à décantation et on rince le ballon rigoureusement avec de l'alcool à 50°. La solution est épuisée à trois reprises avec de l'éther de pétrole à P. E. inférieur à 70° en utilisant successivement : 100, 75 et 50 cc. de solvant. L'insaponifiable total passe dans l'éther de pétrole et les savons restent dans la solution hydroalcoolique. On laisse reposer après chaque agitation et on recueille les solutions éthérées dans une autre ampoule, où on les lave avec 100 cc. d'eau distillée. Pour cela, on n'agite que très légèrement, pour éviter la formation d'émulsions. L'eau est séparée et ajoutée à la solution hydro-

alcoolique pour éviter toutes pertes d'acide gras. La solution éthérée est distillée à sec au B. M., dans le vide, à une température inférieure à 50° et on reprend le résidu avec l'éther de pétrole anhydre P. E. inférieur à 50°. On filtre sur amiante dans un petit vase taré, pour séparer les impuretés, on évapore dans le vide, à 50° jusqu'à poids constant. Cet insaponifiable total est constitué par la cholestérine, et les lipides insaponifiables.

Recherche et dosage de la cholestérine

Pour caractériser la cholestérine dans l'insaponifiable, nous avons utilisé les réactions suivantes effectuées sur une solution chloroformique de cet insaponifiable.

1. *Réaction de Hager-Salkowski.* — On met dans un tube à essai 2-3 cc. de solution chloroformique. A l'aide d'une pipette effilée, on fait tomber au fond du tube 1 cc. à 2 cc. d'acide sulfurique concentré : en présence de cholestérine, il se forme un anneau rouge à la surface des deux liquides.

2. *Réaction de Liebermann-Burchard.* — On met dans un tube à essai 5 cc. de solution chloroformique, 1 cc. d'anhydride acétique, 3 gouttes d'acide sulfurique concentré; on agite : en présence de cholestérine, il se forme peu à peu une coloration bleue qui passe au vert, après quelques minutes.

Ces deux réactions ayant donné des résultats positifs, nous avons procédé au dosage de la cholestérine.

Dosage. — Nous avons employé pour le dosage de la cholestérine la méthode pondérale de Windaus, basée sur la formation d'un complexe digitonine-cholestérine. L'insaponifiable est dissout dans 10 cc. d'alcool absolu, on fait bouillir une minute et on ajoute 15 cc. d'une solution de digitonine à 1 % dans l'alcool absolu (49), on porte à nouveau à l'ébullition encore une minute, on ajoute 2,5 cc. d'eau distillée, ce qui abaisse le degré alcoolique entre 95° et 90° ; le précipité blanc ainsi formé est

(49) D'après Lemeland, la quantité de digitonine employée doit toujours être en excès. 1° Les quantités que nous indiquons permettent de précipiter 45 mgr, au maximum ; 2° l'alcool filtré est recueilli pour récupérer la digitonine.

recueilli sur un filtre, après un repos de 24 heures. On le lave plusieurs fois à l'alcool à 95°, puis avec de l'éther anhydre, on sèche à l'étuve jusqu'à poids constant et on pèse. En multipliant par 0,2431, on obtient le poids de cholestérine contenu dans la prise d'essai.

E. Extraction des acides gras et dosage du saponifiable

Le liquide hydroalcoolique qui reste après la séparation de l'insaponifiable est acidulé par de l'acide chlorhydrique étendu au 1/3 en présence de tournesol comme indicateur. Les acides gras ainsi libérés se trouvant dans une solution alcoolique dont le titre a été abaissé par l'acide et l'eau à 25° environ, passent facilement dans l'éther de pétrole à P. E. inférieur à 70° ; on fait trois épuisements, successivement par 100 cc., 75 cc. et 50 cc. de solvant. Puis les extraits éthérés sont lavés avec précaution à l'eau distillée pour enlever l'acide entraîné et évaporés à siccité dans le vide. Le résidu est repris par l'éther de pétrole à point d'ébullition de 50°, on filtre dans un petit ballon taré, on évapore dans le vide. On sèche dans le vide à la température de 50° jusqu'à poids constant. On a ainsi le poids d'acides gras.

Caractères des acides gras

On procède aux déterminations suivantes :

1. *Point de fusion :* (déterminé au moyen d'un tube effilé).

Technique : Les acides gras liquéfiés sont introduits dans deux petits tubes étroits sur une longueur d'environ 1 cc. La partie inférieure de chaque tube est fermée à la flamme et les tubes sont plongés dans l'eau froide : les acides gras se solidifient. On les place pendant deux jours à l'obscurité. Le point de fusion est déterminé en fixant le tube contre le réservoir d'un thermomètre plongeant dans un récipient rempli d'eau et dont on élève la température progressivement.

Les lectures ont donné un point de fusion = 40°3'.

Indice d'iode (*méthode d'Hübl*). — Cet indice indique le poids d'iode que l'on peut fixer dans des conditions déterminées sur 100 gr. de corps gras, en présence de chlorure mercurique. La détermination se fait par comparaison avec un témoin ne contenant pas de corps gras. *Indice d'iode trouvé* = 65.

Indice de saponification ou Indice de Koeltstorfer. — On appelle indice de saponification d'une matière grasse le poids d'hydrate de potasse exprimé en milligrammes nécessaire pour saturer les acides gras de 1 gramme de matière grasse.

Une quantité connue de matière est pesée dans un ballon, on y ajoute parties égales de solution alcoolique normale de potasse et d'alcool à 95°. Le ballon relié à un réfrigérant à reflux est chauffé au B. M. pendant une heure. On laisse refroidir et on titre l'alcali demeuré libre au moyen d'une solution normale d'acide chlorhydrique.

Dans une autre fiole, on fait un essai comparatif sans matière grasse. Par différence entre les deux résultats, on obtient le nombre de cc. de la solution normale de potasse nécessaire pour saturer les acides gras. En multipliant ce nombre par 0,056 que représente la quantité de potasse existant dans un cm^3 de solution de potasse normal, on obtient l'indice de saponification. *Indice de saponification trouvé* = 208.

Indice d'acidité. — Il indique le nombre de milligrammes d'hydrate de potasse qui peuvent saturer les acides gras libres de 1 gramme de substance. Un poids connu (P) d'acides gras a été dissout dans de l'alcool neutre et l'acidité a été dosée au moyen d'une solution de potasse N/10 en présence de phénolpthaléine. La formule $\frac{N \times 28,2}{P}$ donne l'indice de l'acidité exprimé en acide oléique pour 100 gr. de substance examinée. *Indice d'acidité trouvé* = 24,2.

Nous résumons dans le tableau ci-dessous les résultats obtenus pour les lipides sur 100 gr. de poudre de foie :

Saponifiable (acide gras)	6.8 %
Insaponifiable (cholestérine, + insaponifiable non déterminé)	2,5 %
Extraits totaux	9,3 %
Cholestérine	0,802 %
Point de fusion des acides gras	40°3
Indice d'iode	65.
Indice de saponification	208,0
Indice d'acidité	24,8

ÉTUDES DES GLUCIDES

Le terme glucide désigne le groupe de substances qui comprend les sucres réducteurs non hydrolysables et les substances qui donnent, par hydrolyse un ou plusieurs de ces sucres réducteurs (définition internationale).

Les hydrates de carbone sont les principes constituants des tissus des êtres vivants. Ils font partie de la molécule de certains constituants de l'organisme d'utilité biologique prépondérante, comme les acides nucléiques (dans les noyaux de toutes les cellules) et les galactoprotéides des complexes du cerveau.

1. Recherches et dosage des glucides

L'épuisement par l'alcool bouillant (appareil de Kamagawa-Suto) enlève non seulement les lipides, mais, entre autres produits, les glucides.

En vue de leur dosage, nous avons épuisé directement par l'eau une certaine quantité de poudre de foie, l'alcool pouvant ne pas dissoudre intégralement les glucides.

Nous avons fait macérer 10 gr. de poudre de foie dans de l'eau distillée à l'étuve à 60° pendant 48 heures en agitant fréquemment; on essore et on filtre. Les solutions exactement neutralisées par du carbonate de sodium sont précipitées à chaud, au B. M., par un léger excès d'acétate neutre de plomb à 20 cm³ %, pour précipiter les acides organiques, matières colorantes, matières albuminoïdes, etc..., le précipité est bien lavé à l'eau distillée. Les eaux de lavage sont réunies aux filtrats respectifs, qui sont limpides et jaunâtres. Ces filtrats sont à leur tour précipités à chaud par un léger excès de sous-acétate de plomb à 10 cm³ pour 100. On lave le précipité soigneusement et on ajoute l'eau de lavage au filtrat respectif.

Ces filtrats sont débarrassés à chaud de l'excès de plomb par un courant prolongé d'hydrogène sulfuré. Après filtration le précipité de sulfure de plomb est lavé d'abord à l'eau saturée d'acide sulfhydrique, puis à l'eau distillée ; on porte la solution à l'ébullition et on neutralise par du carbonate de soude. La solution est alors légèrement brune, on acidule par de l'acide acétique et on met en contact pendant une heure avec une petite quantité de charbon animal afin de parfaire la décoloration.

On filtre et on lave le précipité sur le filtre pour les sucres qu'il peut retenir. Les filtrats et les eaux de lavages ainsi obtenus sont parfaitement limpides.

On concentre les solutions réunies à basse température sous pression réduite et on les introduit dans des flacons jaugés. Ils représentent une dissolution aqueuse des substances sucrées contenues dans 10 gr. de poudre d'organe.

Nous avons fait le dosage des sucres selon la méthode de G. Bertrand (50) avant et après interversion acide. Voici la moyenne des résultats obtenus, exprimés en glucose, en grammes et pour 100 grammes de poudre :

Avant interversion : 1,10 %.

Après interversion : 1,96 %.

---

(50) G. Bertrand et P. Thomas. — Guide pour les manipulations de chimie biologique, 1919, p. 85.

2. Déterminations qualitatives des divers sucres

Aldoses et cétoses

a) *Propriétés réductrices en milieu alcalin et à chaud :*

1. Liqueur cupro-alcalin : réduction et formation d'un dépôt de Cu^2O.

2. Sous-nitrate de bismuth + soude : précipité blanc devenant noir a l'ébullition.

3. Bichlorure de mercure + soude : précipité gris-noir.

4. Azotate d'argent + ammoniaque : miroir d'argent métallique.

5. Acide picrique + soude : coloration rouge à chaud.

6. Caramelisation : ébullition avec lessive de soude : coloration brunâtre.

Ces réactions furent positives, donc présence des aldoses ou des cétoses.

Pentoses et Hexoses

Réaction furfurolique. Principe : un sucre réducteur chauffé avec un acide de concentration convenable donne un composé qui peut être condensé avec un phénol pour donner une réaction colorée.

1° *Réaction de Bertrand* (51). Chauffage avec quelques milligrammes de phloroglucine et d'acide chlorhydrique : coloration rouge.

2° *Réaction de Molisch* (52). Chauffage avec quelques milligrammes de naphtol et d'acide chlorhydrique concentré : coloration violette.

Ces réactions furent positives, donc présence de pentoses ou hexoses.

---

(51) G. Bertrand et P. Thomas. — Guide pour manipulations de chimie biologique, 1919, p. 64.

(52) H. Molisch. — Dingl. Polytech. Journal, 1886, CCLXI, p. 135.

Aldoses

1° *Réaction de Tollens et Rosive* (53). Chauffage avec quelques milligrammes de mélange naphtol-résorcine à parties égales et d'acide chlorhydrique : précipité noir, soluble dans l'alcool à 95° en donnant une coloration violette fluorescente.

2° *Réaction de Berg* (54). Les aldoses donnent, avec de l'eau de brome fraîchement préparée et en excès par chauffage au B. M., des acides alcools qui, avec le perchlorure de fer en milieu très légèrement chlorhydrique (55) donnent une coloration jaune.

Ces réactions qui caractérisent, dans les sucres simples ou composés, la présence d'une fonction aldéhyde non modifiée a été négative, *donc pas de sucre à fonction aldéhyde dans notre poudre de foie.*

Cétoses

Réaction de Sélivanoff (56). Chauffage rapide pendant trente secondes avec quelques milligrammes de resorcine et quelques cm³ d'acide chlorhydrique à 12,5 %, coloration rouge due aux cétoses et polyoses d'où elles peuvent provenir par hydratation.

Réaction de Rosenthaler (57). Chauffage avec quelques cristaux de vanilline et de l'acide chlorhydrique : coloration rose ;
Donc présence de sucres à fonction cétonique.

Recherche de l'inosite

L'inosite se rapproche des sucres proprement dits non seulement par sa formule brute mais encore par ses allures générales au cours des réac-

(53) Tolens et Rossive. — Ber. der Deutsch. Chem. Geselschaft 1908, XXXXI, p. 1784.

(54) Berg. — Sur une réaction des sucres à fonction aldéhyde. Bull. Soc. chim. de France 1904 [3], XXXI, p. 1216.

(55) Formule { Fe^2Cl^6 à 45° B. ..... IV gouttes ; HCl à 22° B. ..... II — ; H^2O dist. ..... 100 cm³

(56) Rosenthaler. — Nachw. organisch. Verbindungen, 1923, p. 211.

(57) Rosenthaler. — Zeitschr. für analyt. chemie, 1905, p. 292.

tions physicochimiques et biochimiques. Nous avons recherché et identifié ce cycloexaalcool soit par la réaction de Scheerer modifiée par Meillere (58) basée sur la formation d'acide rhodisonique sous l'influence de l'acide azotique et sa transformation en rhodizonate terreux de coloration caractéristique, soit par la réaction de Gallois basée sur la formation de rhodizonate de mercure sous l'influence de l'azotate de mercure. Nos essais ont été positifs.

Nous estimons donc que notre échantillon de poudre de foie de porc contient de l'inosite.

---

(58) Meillere M.-G. — Contribution à l'étude de l'inosite, Journ. Ph. et Ch., 1906 [6], XXIV, p. 245.

RECHERCHE ET DOSAGE DES PROTIDES

Recherches qualitatives

Nous avons essayé de déterminer les principaux groupes auxquels appartiennent les protides contenus dans la poudre de foie en nous basant sur leur solubilité dans divers liquides d'extraction.

Nous avons employé successivement l'eau distillée, une solution aqueuse de chlorure de sodium à 1 % et une solution aqueuse de potasse à 2 0/00. Dans l'eau pure passent les albumines, dans l'eau salée passent les globulines, dans l'eau alcaline passent les alcali-albumines, les nucléo-albumines et es glycoprotéides.

Nous avons opéré de la manière suivante :

Nous avons fait macérer dans 25 cm^3 d'eau distillée 5 gr. de la poudre de foie à la température ordinaire. Après un contact de vingt-quatre heures et de nombreuses agitations, nous avons essoré à la trompe et filtré ce macéré. Le résidu est remis en contact avec 25 cm^3 d'eau distillée pendant douze heures. On agite à maintes reprises, puis on essore et on filtre. Les deux macérés réunis forment l'extrait A. Le résidu insoluble est traité successivement par 25 cc. d'une solution aqueuse de chlorure de sodium à 10 %, les extraits salés sont réunis et composent l'extrait B. Ce nouveau résidu est épuisé à deux reprises par 25 cc. d'une solution de potasse à 2 0/00. Après douze heures de contact, agitations et filtration, les filtrats sont réunis en extraits C.

Le tableau ci-dessous résume les actions obtenues avec les extraits A et B.

REACTIFS	Extrait A (Albumines)	Extrait B (Globulines)
Réactions de précipitations :		
a) *par les réactifs généraux des alcaloïdes :*		
1. Chlorure mercurique 1/20	Précipité abondant brunâtre	Précipité brun
2. Ferrocyanure de potassium + acide acétique	Précipité verdâtre	Précipité
3. Réactif iode-ioduré (Bouchardat)	Précipité abondant brun-rouge	Précipité
4. Acide picrique	Léger précipité	Léger précipité
5. Acide silicotungstique + acide (Bertrand)	Précipité	Précipité
6. Acide phosphotungstique	Précipité brunâtre	Précipité
7. Iodure de mercure et de potassium (Tanret-Meyer)	Précipité jaunâtre	Précipité
b) *par les sels métalliques*		
1. Sulfate de cuivre	Précipité	Précipité
2. Acétate de cuivre	Léger précipité	Léger précipité
3. Acétate de plomb	Fort précipité blanc	Précipité blanc
c) *par les dissolvants neutres*		
1. Alcool	Louche	Précipité
d) *Coagulation par les acides minéraux à froid*		
1. Acide azotique	Coagulation	Coagulation
e) *Coagulation par la chaleur en milieu acide acétique*	Coagulation	Coagulation
Réactions de coloration :		
1. Réaction xanthoprotéique	Positive	Positive
2. Azotate mercurique (réactif Millon) (tyrosine)	Positive	Précipité grisâtre à froid ne devient pas rougeâtre à chaud (59)
3. Réaction du soufre (cystine)	Faiblement positive	Faiblement positive
4. Réaction furfurolique (Liebermann)	Positive	Positive
5. Réaction du Biuret	Positive	Positive

(59) La réaction de Millon est empêchée par la présence du chlorure de sodium.

Extrait C (Eau potassique)

Les réactifs des alcaloïdes, qui n'agissent (sauf le réactif de Tanret), qu'en milieu acide, ne peuvent être utilisés, l'addition d'un acide produisant à elle seule un précipité abondant. *Toutes les autres réactions précédentes données par l'extrait A ont été positives.*

L'extrait C peut contenir des alcali-albumines, des nucléo-albumines et des glycoprotéides. Pour distinguer entre ces trois sortes de matières albuminoïdes, on traite la solution alcaline par de l'acide acétique au dixième. Il se forme un précipité.

1° Une partie de ce précipité délayé dans de l'eau distillée est chauffée à 120-130° à l'autoclave, on ajoute de la potasse jusqu'à réaction très légèrement alcaline et l'on fait réagir cette dernière sur la liqueur de Fehling.

La formation d'un précipité rouge-orangé d'oxyde cuivreux est l'indice de la présence d'un glycoprotéide.

2° Une autre partie du précipité est desséchée à l'étuve, puis mélangée avec cinq fois son poids d'un mélange d'azotate et de carbonate de sodium. On calcine dans un creuset, on laisse refroidir, on traite le résidu par de l'acide azotique dilué, employé en quantité suffisante pour dissoudre complètement le résidu. La solution azotique est enfin traitée par du molybdate d'ammonium. S'il se forme en chauffant un louche ou un précipité jaune, c'est qu'il y a dans la prise d'essai des nucléo-albumines.

3° Si le précipité ne donne ni la réaction des glycoprotéides, ni celle des nucléo-albumines, c'est que ce précipité est constitué par des alcali-albumines.

La réaction de glycoprotéides a donné des réactions douteuses, tandis que celle des nucléo-albumines et alcali-albumines a donné des résultats positifs.

En résumé, *les réactions indiquées sur les extraits A, B, C nous permettent de conclure que la poudre de foie renferme des albumines proprement dites, des globulines, des alcali-albumines et des nucléo-albumines.*

RECHERCHES QUANTITATIVES

A) Destruction de la matière organique

De nombreux travaux ont été publiés sur le dosage de l'azote. Ils ont tous pour principe commun la transformation de la matière organique azotée en gaz carbonique, ammoniaque et eau, sous l'influence à la fois oxydante et hydrogènante de l'acide sulfurique au voisinage de son point d'ébullition additionné de corps dits adjuvants à la réaction dont le rôle est de faciliter la réaction.

Parmi ces corps, les uns ont la propriété d'élever la température, par exemple le sulfate de potassium. D'autres sont oxydants, par exemple le permanganate de potassium, acide perchlorique, etc., d'autres sont des réducteurs, par exemple le mercure, etc...

Comme on ne possède pas une technique de destruction ayant un caractère absolument général et susceptible d'être appliqué à un mélange quelconque de substances azotées, nous avons essayé les diverses méthodes dont nous donnons les techniques et les résultats. Nous avons opéré chaque fois sur les mêmes quantités de produits ; nous avons noté les temps nécessaires pour obtenir la décoloration de l'acide sulfurique. Dans chaque cas les conditions de chauffage étant naturellement les mêmes, nous avons prolongé le chauffage de trente minutes au delà de cette décoloration, pour achever la minéralisation de l'azote.

1° *Attaque de la substance par l'acide sulfurique et le permanganate de potasse, en présence du mercure* (méthode Kjeldahl, modifiée par Villiers et Moreau-Talon) (60).

On introduit dans le ballon Kjeldahl 1 gr. de poudre. On ajoute 10 cm³ d'acide sulfurique concentré pur et une gouttelette de mercure (61).

---

(60) Villiers et Moreau Talon. — Bull. Soc. Chim., 1918, p. 308 et Ann. chim. Analyt., juin 1919.

(61) Le mercure décompose l'acide concentré chaud avec dégagement d'anhydride sulfureux, réducteur énergique. Les sels mercuriels formés catalysent la désagrégation des molécules organiques.

On chauffe selon l'indication de la méthode, l'oxydation se fait au moyen du permanganate de potasse sec, en poudre. Le mercure est détruit de sa combinaison ammoniaco-mercurique par un réducteur énergique, l'hypophosphite de soude. (Les liquides résultant de la destruction sont amenés à des volumes de 200 cm³ avec de l'eau distillée.)

2° *Attaque de la substance par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre* (méthode Sörensen et Andersen) (62).

La même quantité de la poudre est attaquée par 10 cm³ d'acide sulfurique et un cristal de sulfate de cuivre.

3° *Attaque de la substance par l'acide sulfurique en présence de sulfate de mercure, de sulfate de manganèse et de sulfate de fer.*

L'attaque se fait par 10 cm³ d'acide sulfurique, avec addition pour chaque cas différent de cristaux de SO^4Mn, SO^4Hg, SO^4Fe, comme catalyseurs.

4° *Attaque de la substance par un mélange d'acide sulfurique et d'acide perchlorique* (méthode de Lematte, Boinot et Kahané) (63).

L'attaque se fait avec 10 cm³ du mélange suivant :

Acide sulfurique pur concentré (66° B).....	17 cc. 50
Acide perchlorique (1.615).....	32 cc. 50

On régularise l'ébullition au moyen de billes de verre. Le chauffage se fait d'abord au bain de sable, jusqu'à désagrégation, puis à feu nu, jusqu'à élimination des vapeurs.

5° *Attaque de la substance par l'acide sulfurique en présence d'oxalate neutre de potasse* (méthode de Denigès) (64).

---

(62) Sörensen et Andersen. — Zeitschr. f. Physiol. chemie, 1905, XXXXIV, p. 429.

(63) Lematte, Boinot et Kahané. — L. c.

(64) G. Denigès. — Précis de chimie analytique, 1920, p. 749 et Bull. des trav. de la soc. de Pharm. de Bordeaux, 1894, XXXIV, p. 362.

Attaque par 8 cc. d'acide sulfurique concentré pur. On chauffe jusqu à ébullition tranquille. On retire du feu et on agite à l'air, pour faire rapidement refroidir. Au bout de cinq minutes, on ajoute peu à peu 8 cc. de solution d'oxalate de potasse à 30 % (65) et on chauffe. Après formation d'une mousse peu abondante, l'ébullition devient tranquille.

6° *Attaque de la substance par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium* (méthode de F. Pregl) (66).

L'attaque se fait par 10 cc. d'acide sulfurique concentré et pur en présence d'un cristal de sulfate de cuivre et un autre de sulfate de potassium.

B) Microdosage de l'Azote

Nous avons dosé l'azote dans les solutions de sulfate d'ammoniaque, obtenues dans les méthodes différentes en utilisant l'appareil de Parnas et Wagner (66). L'ammoniaque est déplacée par de la soude à 30 % et est entraînée par un courant de vapeur d'eau. On la reçoit dans un excès connu d'acide sulfurique N/70 et l'on détermine cet excès par de la soude N/70 en présence de rouge de méthyle (acide para-diméthylazobenzène orthocarbonique comme indicateur en solution à 0 gr. 02 dans 100 cc. d'alcool à 80°) :

$$1\ cm^3\ SO^4H^2\ \frac{N}{70} = 1\ cm^3\ NaOH\ \frac{N}{70} = 0\ gr.\ 0002\ N.$$

Nous avons ainsi fait trois destructions avec la poudre de foie et pour chacune des méthodes employées. Nous avons effectué sur chacune des solutions cinq microdosages et nous avons pris la moyenne des résultats trouvés.

---

(65) Ce sel agit tant par les propriétés réductrices énergiques de l'acide oxalique que par l'action catalytique de sulfate de potasse qu'il engendre.

(66) Nicloux M. — La microanalyse organique quantitative. Bull. Soc. Chim. de France, 1924, XXXV, p. 1041.

(67) Derrien R. et Fontes G. — Chimie biologique médicale, Paris, Baillère et Fils, édit. 1927.

Le temps nécessaire pour la destruction de la matière organique par les diverses techniques (le temps compté étant celui nécessaire pour l'obtention d'un liquide incolore) et la quantité de SO^4H^2 combinée sont indiquées dans le tableau ci-dessous :

Méthode de destruction	Durée moyenne de la destruction	$SO^4H^2N/70$ neutralisé en cm^3	Azote correspondant en gr. pour 100 gr. de poudre
$SO^4H^2 + Hg$	2 h. 40'	13,25	10,6
$SO^4H^2 + SO^4Cu$	3 h. 20'	13,50	10,8
$SO^4H^2 + SO^4Hg$	1 h. 40'	13,085	10,46
$SO^4H^2 + SO^4Mn$	3 h. 40'	13,06	10,448
$SO^4H^2 + SO^4Fe$	2 h. 30'	13,0	10,4
$SO^4H^2 + ClO^4H$	0 h. 55'	11,2	8,9
$SO^4H^2 + (COOK)^2$	3 h. 10'	13,2	10,5
$SO^4H^2 + (COOH)^2$	2 h. 15'	13,1	10,48
$SO^4H^2 + SO^4Cu + SO^4K^2$	3 h. 5'	13,9	11,12

Des résultats obtenus, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

Seul le mélange d'acide sulfurique avec du sulfate de cuivre et du sulfate de potassium, ce dernier adjuvant jouant le rôle d'un élévateur de température, nous a donné les résultats les plus satisfaisants en rendement d'ammoniaque.

Les autres catalyseurs facilitaient beaucoup plus la décoloration du mélange que la transformation de l'azote en ammoniaque. La destruction sulfo-perchlorique, séduisante par sa brièveté, nous a donné des résultats inférieurs. Notons toutefois que par le procédé Lematte (acide sulfurique avec l'acide perchlorique), le processus de destruction des matières organiques est considérablement réduit pour une même prise d'essai. Il n'est donc pas à rejeter *a priori* et peut être d'un grand secours lorsqu'on veut opérer une rapide destruction organique, mais par contre les résultats sont de beaucoup inférieurs à ceux donnés par les autres méthodes. Les écarts de la teneur en azote observés peuvent s'expliquer par ce fait que l'emploi d'un oxydant trop énergique peut occasionner d'importantes pertes d'ammoniaque et un dégagement d'azote gazeux, et par cet autre que le corps azoté peut se dégager en nature du sein de

l'acide chaud et qu'il échappe par suite partiellement à l'attaque sulfurique.

Enfin, il y a de nombreuses molécules dont l'azote n'est transformé qu'avec difficulté en ammoniaque (68).

Dosage de l'ammoniaque

En ce qui concerne le dosage de l'ammoniaque, nous avons suivi la méthode de A. Jovanovitch (69), l'ammoniaque est déplacée des solutions ammoniacales par une solution de carbonate de lithium qui ne met en liberté que l'ammoniaque provenant de sels ammoniacaux. L'ammoniaque est entraînée par un courant de vapeur d'eau produit dans le vide à la température de 40° à 50° et captée par une solution d'acide sulfurique N/70 en excès. Après avoir chauffé pour chasser l'acide carbonique, on titre l'excès d'acide sulfurique par de la soude N/70 en se servant de rouge de méthyle comme indicateur.

Dosage de l'Azote soluble (non albuminoïde)

Quant à l'azote soluble non albuminoïde, nous l'avons dosé en ayant recours à la méthode de Voït (70), basée sur le fait que les matières albuminoïdes sont insolubles dans l'alcool à 78 % saturé de sel à une concentration déterminée. 2 gr. de la poudre de foie sont placés dans une fiole jaugée de 250 cc., on ajoute 40 cc. d'eau distillée et 4 à 5 gouttes d'une solution de tropéoline 00. On verse de l'acide chlorhydrique goutte à goutte jusqu'à coloration rouge, puis 140 cc. d'alcool

---

(68) Mestrezat et Mlle Paul-Janet. — Présence dans l'urine d'un reste azoté, que ne dose pas la méthode de Kjeldahl. Bull. soc. chim. biol., 1921, III, p. 88-94.

(69) Jovanovitch A. — Microdosage de l'ammoniaque. Bull. Soc. Chim. Biol., 1925, VII, p. 665.

(70) Voït E. — Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweiss-Stickstoffes Zeitschr. für Biologie 1926, LXXXIV, p. 153.

Weber F. — Ueber eine Methode zur Bestimmung des Extraktiv-Stickstoffes, Zeitschr. für Biologie 1926, LXXXIV, p. 168.

à 90°. On laisse reposer six heures et après on ajoute 5 cc. d'une solution de sulfate de soude à 20 %.

On complète le volume à 250 cc. avec de l'alcool, on laisse reposer encore une heure en agitant de temps en temps. On filtre ; le précipité renferme des matières albuminoïdes; 50 cc. de liquide sont soumis à la kjeldahlisation après avoir évaporé l'alcool dans le vide. On détruit les matières organiques avec un mélange d'acide sulfurique et comme adjuvants : le sulfate de cuivre et du sulfate de potassium et l'on dose l'azote soluble selon la méthode de Parnas et Wagner (71). Cette méthode nous permet de calculer exactement les matières albuminoïdes.

Azote total — azote soluble = azote albuminoïde.

Azote albuminoïde × 6,25 = *matières albuminoïdes.*

Voici les résultats obtenus :

Substances dosées	Pour 100 gr. de poudre de foie de porc
Azote total	11,12
Azote soluble (non albuminoïde)	2,43
Azote albuminoïde	11,12—2,43 = 8,69
Matières albuminoïdes	8,69×6,25=54,31
Ammoniaque	1,25

Remarques : 1° On voit souvent dans les travaux de dosage des protides la teneur en matières albuminoïdes exprimée en multipliant l'azote total par 6,25. Ce chiffre est toujours trop haut parce que dans ce calcul de l'azote dans les matières albuminoïdes entre aussi l'azote qui se trouve sous une forme non albuminoïde.

2° La distillation complète d'ammoniaque dans l'appareil Parnas-Wagner demande sept à huit minutes et non trois, comme l'indiquent plusieurs auteurs.

---

(71) Parnas et Wagner. — Ueber die Ausführung von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. Bioch. Zeitschrift, 1921, CXXV, p. 253.

3° La distillation complète d'ammoniaque dans l'appareil Jovanovitch demande neuf à dix minutes et non cinq comme l'indiquent également plusieurc auteurs.

En outre, l'intensité d'arrivée de la vapeur d'eau change, selon le cas, le résultat en ammoniaque, et il est recommandé que le courant soit autant que possible régulier toute la durée de la distillation.

RECHERCHES DES FERMENTS

(diastases, enzymes)

C. Oppenheimer (72) définit les ferments d'une manière simple :

Une diastase, c'est un catalyseur, c'est-à-dire une substance qui est capable d'accélérer et non de provoquer une réaction qui ne serait produite que très lentement en dehors de sa présence. Les ferments agissent d'une manière spécifique, c'est-à-dire favorisent telle ou telle réaction chimique, ou même la transformation particulière d'un corps de structure bien déterminée. Nous savons aujourd'hui que l'analogie des ferments et des catalyseurs minéraux peut être poussée très loin et que le pouvoir fermentaire appartient à des substances minérales qui sont à l'état colloïdal.

1. Schaeffer (73) résume la nature chimique des ferments par les faits suivants :

« Les ferments sont des corps à poids moléculaire élevé, à l'état colloïdal, diffusant difficilement et donnant avec l'eau des hydrosols; électrolytes amphotères, ils contiennent une fonction acide et une fonction basique et résultent de l'association d'un support colloïdal et des sels minéraux.

(72) Oppenheimer C. — Die Fermente und ihre Wirkungen, 1913, p. 15.

(73) Schaeffer J. — Les ferments, 1929. Masson, éditeur, Paris.

Les recherches poursuivies sur les ferments ont permis de faire rentrer dans le groupe des processus physico-chimiques une série de phénomènes autrefois rattachés à une influence vitale. Elles ont ainsi exercé sur les conceptions biologiques une influence considérable et ont abouti à des résultats qui intéressent également le physiologiste et le médecin, le bactériologue, le botaniste, le chimiste et l'agriculteur. Par suite du progrès des sciences physico-chimiques, l'étude des fermentations a pris un nouvel essor et toute une série de nouvelles théories ont été émises.

Ce serait sortir du cadre de cette étude que d'aborder tous les problèmes que soulève l'étude des ferments. Retenons simplement que l'action des ferments exercée sur les quatre grands groupes de composés organiques : matières grasses, glycides, lipides, protides, est souvent reversible, et que par conséquent toutes ces manifestations rentrent dans le groupe des phénomènes d'équilibre chimique. Leur pouvoir n'a rien de mystérieux. Les ferments permettent simplement la manifestation de certains phénomènes physico-chimiques dans des conditions de temps et de température où, sans leur intervention, rien ne se serait produit. En contact avec la matière fermentescible, les ferments la transforment et cette dernière se fait avec tant de régularité qu'on a pu la représenter par une courbe géométrique fort simple.

L'acide chlorydrique, par exemple, est capable d'hydrolyser à haute température les protéïnes et de les transformer en protéoses. La chlorhydro-pepsine de l'estomac ne fait rien de plus. Mais elle rend possible la transformation à la température du corps.

La matière organique est la partie active en raison de son état colloïdal et de son association avec des métaux qui sont eux-mêmes à l'état colloïdal. Le support organique qui est le plus souvent de nature protéique, peut aussi appartenir au groupe des glycides ou des lipides, comme l'a démontré le Professeur H. Roger.

Les études poursuivies sur les ferments établissent la complexité de leur action. En même temps, elles éclairent bien des points obscurs de la physiologie et nous préparent à mieux comprendre un grand nombre de faits pathologiques. Voilà pourquoi tous ceux qui s'intéressent aux problèmes biologiques ne peuvent laisser de côté l'étude des ferments.

Les ferments des glucides

Pour la recherche de ces ferments, nous avons employé l'extrait de la poudre de foie en triturant 1 gr. de poudre de foie avec 20 gr. d'une solution à 0,9 % de chlorure de sodium dans un mortier ; puis, nous avons abandonné le mélange pendant douze heures, à la température du laboratoire (18-20°) en ajoutant 1 % de toluène. Ensuite, nous l'avons centrifugé assez fortement avec la centrifugeuse électrique pendant trente minutes.

Amylase

Cette diastase a le pouvoir de transformer l'amidon par un processus hydrolytique en dextrine et en maltose ou en glucose.

L'étude de l'hydrolyse fermentative par la réaction d'absorption de l'iode et par la réduction de la liqueur de Fehling a permis de ranger de la manière suivante les phases successives de la dissociation amylolytique :

Réaction à l'iode	Réduction de la liqueur de Fehling	Phases
+ coloration bleue	0	Amidon
+ coloration violette	0	Amidon + amylodextrines
+ coloration rouge-brune	0	Amidon + érythrodextrines
—	+	Achrodextrines + maltose

Ainsi, on admettrait l'apparition des produits intermédiaires : les dextrines, puis finalement la formation de maltose, capable d'être transformée dans certains cas en glucose par un nouveau ferment : la *maltase*.

Nous avons pu confirmer l'existence de l'amylase et de la maltase dans la poudre du foie provenant du porc.

Comme pour l'extraction avec la solution physiologique de chlorure de sodium, beaucoup de matières qui donnent la réaction du Biuret passent dans l'eau, nous avons essayé de séparer les diastases de ces éléments par une précipitation avec une solution colloïdale d'oxyde de fer (Fe^2O^3) à 5 % (Ferrum dialysatum Siegfried A. G. (73 *bis*).

Nous avons suivi la méthode de W. Löb et S. Guttmann (76). Ces auteurs démontrent que le pouvoir amylasique des filtrats augmente avec la quantité croissante de solution de fer. Mais, si le filtrat ne montre plus la réaction de Biuret, chaque addition de cette solution colloïdale fait décroître le pouvoir amylasique des filtrats.

Nous avons opéré de la façon suivante, et directement sur la poudre du foie (Löb et Guttman, pour les recherches, ont isolé les ferments. Nous n'avons pas trouvé leurs méthodes opportunes, car il faut supposer que la concentration des différents ferments dans l'organe est grande. En présence des quantités relativement petites de ferments, un essai peut échouer sans que l'on puisse affirmer que le ferment en question manque totalemnt dans le foie.)

Nous ajoutions donc 2 cc. de la solution colloïdale d'oxyde de fer à 10 cc. de filtrat provenant de la solution centrifugée, après une macération de douze heures avec la solution physiologique, et 1 cc. d'une solution de sulfate de magnésie à 0 gr. 5 % et 7 cc. d'eau distillée. Le filtrat était légèrement jaune et complètement limpide. 10 cc. de ce filtrat ont été mélangés avec 40 cc. d'une solution d'empois d'amidon à 0,5 % et 1 % de toluène. Nous avons fait agir ce mélange à l'étuve à 35° pendant

---

(73 bis) **Préparation du fer dialysé.** — Pour la préparation de l'oxyde de fer, pour la désalbumination des liquides biologiques, nous recommandons le mode opératoire indiqué par Fabre et Pénau (74). Ils se sont servi d'un dialyseur rotatif, décrit par MM. Astruc et Canals (75), assurant l'agitation du liquide à purifier. 100 cm. de perchlorure de fer officinal sont additionnés petit à petit de 40 gr. de bicarbonate de potasse, pulvérisé suivant la méthode prescrite. On dialyse contre de l'eau bidistillée pendant 3 jours en remplaçant l'eau toutes les 3 ou 4 heures. On obtient ainsi en quelques jours une solution dilueé de fer colloïdal contenant environ 1 gr, 25 % d'oxyde de fer (Fe^2O^3).

(74) Fabre R. et Penau H. — Sur un procédé de dialyse rapide et son application à la préparation de l'oxyde de fer dialysé. Journ. Pharm. et Chim. 1926 [8], III, p. 100.

(75) Astruc A. et Canals E. — Sur un dialyseur rotatif. Journal de Pharm. et Chim. juillet 1925 [8], II.

(76) Löb W. et Guttman S. — Zur Kenntnis der Enzyme der Ovarien, Bioch. Zeitschr. 1912, XXXXI, p. 445.

vingt-quatre heures. En même temps, nous avons pratiqué des essais de contrôle une fois en remplaçant l'empois d'amidon par l'eau distillée et une autre fois sans l'extrait de foie dans les mêmes conditions. Nous avons pu constater la formation des sucres réducteurs tant par la liqueur cupro-alcaline, que par la formation d'osazone. Pour le dosage, nous avons filtré 5 cc. et avons appliqué la méthode de réduction bien connue de G. Bertrand (77) au dosage de petites quantités de sucre.

Nous nous sommes servis du reste de la solution pour la recherche des osazones. Pour 10 cc. du filtrat de la solution venant de l'étuve à 37°, nous ajoutions 0 gr. 25 de chlorhydrate de phenylhydrazine et 0 gr. 5 d'acétate de sodium. Nous chauffions une heure au B.M. bouillant. La formation d'osazone nous donnait après refroidissement une image claire et même quantitativement appréciable du pouvoir amylasique.

Tous les essais ont été exécutés en série. Nous donnons le résultat pour chaque essai sans faire le calcul pour la quantité de poudre du foie mise en œuvre.

N°	Composition du mélange		Cu^2O en gr.	Formation d'osazone
1.	Solution d'empois d'amidon à 5 %	40,0 cc.		
	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.	0,016	abondante
	Toluène	0,5 cc.		
2.	Eau distillée	40,0 cc.		
	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.	0,0031	traces
	Toluène	0,5 cc.		
3.	Solution d'empois d'amidon à 5 %	40,0 cc.		
	Eau distillée	10,0 cc.	0,0015	rien
	Toluène	0,5 cc.		

Ces résultats nous démontrent que la poudre de foie contient de l'amylase.

Enfin, pour avoir une idée approximative de la teneur de la poudre de foie en amylase, nous nous sommes servis de la méthode de

(77) G. Bertrand. — Le dosage de sucres réducteurs. Bull. Sc. Pharmacol., 1907, p. 7.

Wohlgemuth (78). 1 gr. de la poudre a été trituré avec 30 cc. d'une solution à 0 gr. 9 % de chlorure de sodium, pendant une heure. Après centrifugation, nous recueillons 20 cc. de liquide.

0 cc. 05 de ce filtrat parfaitement limpide dilué avec de l'eau pour avoir 10 cc. ont suffi pour saccharifier 5 cc. d'empois d'amidon à 1 %, en vingt-quatre heures à la température de 37°.

Le pouvoir diastasique est donc : $D \begin{matrix} 24 \text{ heures} \\ 37° \end{matrix} = 100$

Cette quantité en amylase est relativement petite si l'on considère le résultat obtenu dans les mêmes conditions avec le pancréas qui est de 215.000 en vingt-quatre heures (79).

Maltase

Le maltose, formé par l'amylase, s'est dédoublé en donnant du glucose, et cela grâce à un autre ferment : *la maltase.*

Pour la recherche de ce ferment, le filtrat d'une macération aqueuse de poudre de foie a été additionnée de maltose et l'ensemble a été porté à l'étuve à 37° durant vingt-quatre heures.

Ce temps écoulé, l'osazone a été préparée. Son point de fusion était 227°; de plus, traitée par le procédé de Grimbert (80), elle ne paraissait être seulement formée que de glucosazone non souillée de maltosazone.

Cela nous permet de conclure à la présence de maltase dans notre poudre de foie.

Glycogénase

Musculus et von Mehring (81) ont trouvé que l'amylase agit de la même façon sur l'amidon et sur le glycogène. On pouvait donc s'attendre à un résultat positif dans la recherche de la *glycogénase.* Nous avons

---

(78) Wohlgemuth J. — Uber eine neue Methode zur quantitative Bestimmung des diastatischen Fermentes. Bioch. Zeitschr., 1908, IX, p. 1.

(79) Löb et S. Guttman. — L. c. Bioch. Zetischr., 1912. 41, p. 445.

(80) Grimbert. — Journ. Pharm. et Chim. [6], XVII, p. 225.

(81) Musculus et von Mehring. — Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogèn durch Diastas, Pancreas, Speichel und Leber Ferment. Zeitschr. für physiol. Chem., 1879, II, page 403.

mené les essais de la même façon que pour l'amylase en remplaçant l'amidon par le glycogène.

Nous nous sommes rendu compte que la poudre de foie contient de la glycogénase, c'est-à-dire peut hydrolyser le glycogène.

Voici nos résultats :

N°	Composition du mélange		Cu^2O en gr.	Formation d'osazone
1.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.		
	Glycogène	0,2 gr.	0,0265	abondante
	Eau distillée	40,0 cc.		
	Toluène	0,5 cc.		
2.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.		
	Eau distillée	40,0 cc.	0,0052	traces
	Toluène	0,5 cc.		
3.	Eau distillée	50,0 cc.		
	Glycogène	0,2 gr.	0,0115	rien
	Toluène	0,5 cc.		

D'après les résultats obtenus, *on peut conclure à la présence de la glycogénase dans notre poudre de foie.*

Recherche de l'Inulinase

Ce ferment a le pouvoir de transformer l'inuline en fructose. L'inuline appartient aux hydrates de carbone difficilement attaquables, comme l'ont démontré les recherches de Komanos (82), Richaud (83), Portier et Bierry (84). Nous avons utilisé la même technique que pour l'amylase mais, l'inuline étant très peu soluble, nous avons donc prolongé le séjour à l'étuve de trois à cinq jours. Nous n'avons pas réussi à obtenir d'osazone.

(82) Komanos. — Ueber die Verdanung des Inulins und seine Verwendung bei Diabetes mellitus Th. Doct. Med. Strasbourg, 1875.

(83) Richaud. — Sur quelques points relatifs à l'histoire biologique de l'inuline chez les animaux. C. R. Soc. biol., 1900, VII, p. 416.

(84) Portier et Bierry. — Recherche sur l'influence de l'alimentation sur les sécrétions diastasiques, C. R. Soc. Biol. LIII, p. 810.

Voici nos résultats :

N°	Composition du mélange		Cu^2O en grammes après 3 jours	Cu^2O en grammes après 5 jours
1.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.		
	Inuline	0,5 gr.	0,025	0,028
	Eau distillée	40,0 cc.		
	Toluène	0,5 cc.		
2.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.		
	Eau distillée	40,0 cc.	0,005	0,0051
	Toluène	0,5 cc.		
3.	Inuline	0,5 gr.		
	Eau distillée	50,0 cc.	0,015	0,016
	Toluène	0,5 cc.		

Ces résultats tendraient à faire douter de l'existence de l'inulinase dans la poudre de foie, dans tous les cas, si ce ferment existe, dans cet organe, il ne s'y trouve qu'en très petite quantité.

Sucrase (Invertine, invertase, saccharase, citrocymase)

La sucrase dédouble le saccharose en d-glycose qui dévie à droite la lumière polarisée et en d-fructose avec une déviation polarimétrique à gauche. Comme cette dernière déviation est plus forte, le mélange est levogyre. C'est le sucre interverti. *Nous pouvons confirmer sa présence dans notre poudre de foie.*

Voici nos résultats :

N°	Composition du mélange		Oxyde cuivreux en gr. après 1 jour	Oxyde cuivreux en gr. après 3 jours	Oxyde cuivreux en gr. après 5 jours	Formation d'osazone
1.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.				
	Saccharose	0,25 gr.	0,019	0,0305	0,0309	abondante
	Eau distillée	40,0 cc.				
	Toluène	0,5 cc.				
2.	Saccharose	0,25 gr.				
	Eau distillée	50,0 cc	0,004	0,004	0,0041	rien
	Toluène	0,5 cc.				
3.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.				
	Eau distillée	40,0 cc.	0,0050	0,0051	0,0051	traces
	Toluène	0,5 cc.				

Recherche de la lactase

C'est un ferment qui agit sur le lactose en le dissociant en une molécule de glucose et une de galactose. Nous avons recherché la lactase en faisant digérer la poudre de foie dans une solution de sucre de lait à 1 % à la température de 37°.

Nous n'avons pas pu constater d'action, même en prolongeant nos essais pendant cinq jours.

Glycolase

Cet enzyme peut décomposer les dextroses et les lévuloses. Il nous a paru intéressant de le rechercher dans la poudre de foie.

Nous avons eu des résultats positifs, en utilisant l'action d'oxydants; car, d'après Löb (85), c'est une condition nécessaire à la glycolyse normale Nos essais ont été menés avec de l'eau oxygénée. Nous en avons ajouté en quantité suffisante pour qu'il en reste encore *en excès* malgré sa décomposition partielle, par le *catalase* qui existe dans notre poudre de foie. Pour éviter l'acidification du milieu par suite de la formation de produits d'oxydation de glucose, nous avons ajouté au commencement du carbonate de calcium précipité. Voici les résultats obtenus :

N°	Composition du mélange		Volume prélevé pour le dosage en cc.	Cu^2O en gr
1.	Eau oxygénée à 3 %	25,0 cc.		
	Solution de glucose à 2 %	25 cc.	10	0,192
	Carbonate de calcium	1 gr.		
2.	Poudre de foie	1 gr.		
	Solution de glucose à 2 %	25 cc.	5	0,018
	Carbonate de calcium	0,5 gr.		
	Toluène	1 cc.		
3.	Poudre de foie	1 gr.		
	Eau oxygnée à 3 %	25 cc.		
	Solution de glucose à 2 %	25 cc.	10	0,011
	Carbonate de calcium	0,5 gr.		
	Toluène	1 cc.		

Ces résultats permettent de conclure l'existence de la glycolase dans notre poudre de foie.

(85) Löb W. — Beiträge zur glycolyse. Biochem. Zeitschr. XXIX, 1910, p. 316.

Amygdalase ou Emulsine

Il nous était intéressant de rechercher ce ferment des hétéro-glucosides qui dédouble l'amygdaline en acide cyanhydrique, glucose et benzaldéhyde.

Pour le rechercher dans notre poudre de foie, un macéré aqueux de celle-ci a été additionné d'amygdaline et porté à 37° à l'étuve. Un papier picro-sodé de Guignard, placé dans l'atmosphère du ballon, hermétiquement fermé, permettait de reconnaître la présence d'acide cyanhydrique prenant naissance par hydrolyse de l'amygdaline par l'émulsine. Le papier a rougi, par suite de formation d'acide iso-purpurique.

En l'absence d'amygdaline, la poudre a donné des résultats négatifs.

Certains auteurs prétendent que la formation d'acide cyanhydrique est dûe à d'autres agents surtout des microorganismes. *D'après nos résultats, il est permis de conclure à la présence de l'émulsine dans notre poudre de foie.*

Salicase

Nous avons recherché ce ferment qui hydrolyse la salicine en la transformant en glucose et en saligénine. Nous avons pu confirmer la présence de ce ferment dans notre poudre de foie.

Les résultats de nos essais sont résumés dans le tableau ci-dessous :

N°	Composition du mélange		Temps de digestion à l'étuve en heures	Réduction de la liqueur de Fehling par le filtrat du mélange après la digestion de l'épreuve
1.	Poudre de foie	1 gr.		
	Eau distillée	50,0 cc.	48	Positive
	Salicine	1 gr.		
	Toluène	0,5 cc.		
2.	Poudre de foie	1 gr.		
	Eau distillée	50,0 cc.	48	Négative
	Toluène	0,5 cc.		
3.	Eau distillée	50,0 cc.		
	Salicine	1 gr.	48	Négative
	Toluène	0,5 cc.		

Ces résultats nous permettent de conclure à la présence de la salicase.

Hélicase

C'est un ferment qui hydrolyse l'hélicine en la transformant en glucose et en aldehyde salicylique. *Nous avons eu des résultats positifs et nous pouvons confirmer sa présence dans notre poudre de foie.* Nos recherches ont été menées de la même façon que pour la salicase, en remplaçant la salicine par l'hélicine.

Arbutase

Ce ferment hydrolyse l'arbutine en glucose et hydroquinone.

Nous avons eu également des résultats positifs et nous confirmons sa présence dans notre poudre de foie.

Nos recherches ont été menées également de la même façon que pour la salicase, en remplaçant la salicine par l'arbutine.

Les ferments des lipides

Le cadre des lipases proprement dites s'est considérablement élargi par suite des notions récemment acquises sur les lipides (86). Il comprend actuellement, en outre des lipases, les ferments des glycérides, les ferments qui dissocient les éthers gras supérieurs, et les éthers de la cholestérine. Enfin, il convient d'y ajouter les ferments mal connus qui dissocient les éthers de la lécithine et des autres phosphatides : la phosphatase, la chlorophyllase, la tannase et la sulfatase.

Nous nous sommes limités à la recherche de la *lipase*, de la *lécithase* et de la *phosphatase*.

Lipase

C'est un ferment soluble qui hydrolyse les éthers de la glycérine et les dédouble en glycérine et acides gras.

Pagenstecher (87) a fait des analyses détaillées des différents tissus et a donné les chiffres suivants : augmentation de l'acidité après la digestion

(86) Schaeffer. — L. c.

(87) Pagenstecher A. — Das Vorkommen von Lipasen in Geweben. Biochem. Zeitschr., 1908, XXII, p. 285.

d'huile d'olive, calculée en soude décinormale, pour 10 grammes de matière sèche :

Rate	29,7
Foie	21,6
Rein	20,3
Poumon	10,9
Cerveau	8,4
Viande	3,6

Nous avons fait des essais qui permettaient de confirmer la présence d'une lipase dans la poudre de foie.

Nous nous sommes servis d'une solution aqueuse de monobutyrine à 1 %. Nous avons dosé l'acide butyrique mis en liberté selon la méthode de Hanriot et Camus (88).

Comme pour les recherches précédentes, nous avons préparé un extrait de poudre de foie en faisant macérer notre produit avec de l'eau distillée ou de préférence avec la solution physiologique de chlorure de sodium. Après une centrifugation d'une demi-heure, nous avons filtré. Selon les indications, nous avons laissé digérer pendant 24 heures à 37°. Voici les résultats en cm³ de soude décinormale en prenant la phénolphtaléine comme indicateur :

N°	Composition du mélange		Temps de digestion à l'étuve en heures	NaOHN/10 en cm³
1.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.		
	Monobutyrine à 1 %	10,0 cc.	24	2,5
	Toluène	0,25 cc.		
2.	Extrait de foie à 1/20	10,0 cc.		
	Eau distillée	10,0 cc.	24	0,9
	Toluène	0,25 cc.		
3.	Monobutyrine à 1 %	10,0 cc.		
	Eau distillée	10,0 cc.	—	0,28
	Toluène	0,25 cc.		
	(titré de suite après le mélange)			
4.	Monobutyrine à 1 %	10,0 cc.		
	Eau distillée	10,0 cc.	24	0,31
	Toluène	0,25 cc.		

La lipase existe donc en quantité notable dans la poudre de foie.

(88) Hanriot et Camus. — Sur le dosage de la lipase. C. R. Ac. Sc., 1879, CXXIV, p. 235.

Lécithase

Il nous semblait intéressant de savoir si notre poudre de foie de porc contient ce ferment dédoublant la lécithine.

Pour sa recherche, nous avons préparé par trituration lente de 2 gr. de lécithine pure avec 200 gr. d'eau chaude une émulsion homogène et stable. Ensuite, nous l'avons divisée en quantités égales dans différents petits flacons, suivant les indications ci-dessous ; nous avons laissé également digérer l'émulsion avec et sans eau distillée.

Nous avons titré l'acide formé avec la soude décinormale en présence de phénolphtaléine comme indicateur, après une digestion à l'étuve à 37°, pendant 24 heures. *Les résultats, qui sont positifs, sont consignés dans le tableau ci-dessous :*

Composition des mélanges		Temps laissé à l'étuve en heures	NaOHN/10 en cm³
Extrait de foie à 1/20	10 cm³		
Emulsion de lécithine	5 cm³	24	1,85
Toluène	0,2 cm³		
Extrait de foie à 1/20	10 cm³		
Eau distillée	5 cm³	24	0,9
Toluène	0,2 cm³		
Emulsion de lécithine (titrée de suite)	5 cm³	—	0,34
Emulsion de lécithine	5 cm³	24	0,38
Emulsion de lécithine	5 cm³		
Eau distillée	5 cm³	24	0,40
Toluène	0,2 cm³		

Phosphatase

Ce ferment libère les alcools et l'acide phosphorique de phosphatides. Husler (89) a trouvé chez le chat une phosphatase dont l'activité était très forte dans le rein, moins dans les poumons, très faible dans le foie

(89) Hussler. — Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierischen Organen Biochen. Zeitschr., 1912, XXXIX, p. 1.

et la rate, il manque dans le pancréas et les muscles. Umeno (90), faisant l'étude de la phosphatase hépatique chez différents animaux, a constaté dans son activité, l'ordre décroissant suivant : Poule > lapin > chien > cobaye, etc.

Ce même auteur a constaté que la phosphatase hépatique est presque deux fois moins active que celle du rein. Il constate également qu'au cours de néphrites expérimentales l'activité de la phosphatase rénale diminue de la moitié aux deux tiers par comparaison à l'activité normale. La phosphatase du foie, par contre, n'est pas influencée sensiblement. Il nous a paru intéressant de rechercher ce ferment dans la poudre de foie.

Pour la recherche de ce ferment, un extrait a été préparé de la façon suivante : 2 grammes de poudre de foie ont été agités avec 50 cc. d'une solution de chlorure de sodium à 0,9 % pendant une heure dans la machine à agiter. Après avoir centrifugé le mélange, nous l'avons filtré. 10 cc. de cet extrait ont été mélangés avec 10 cc. d'une solution à 2 % de glycérophosphate de sodium et 0,25 cc. de toluène. D'autre part, nous avons mélangé 10 cc. de l'extrait de foie préalablement porté à l'ébullition pour détruire les ferments soupçonnés, avec la même quantité de glycérophosphate de sodium. Nous avons porté les deux essais à l'étuve à 37° pendant quarante-huit heures.

Après la digestion, les mélanges ont été bouillis, acidulés par l'acide acétique et additionnés de chlorure de sodium. On a ainsi désalbuminé les extraits. On filtre, on lave soigneusement les précipités et on précipite l'acide phosphorique dans les deux filtrats à l'état de phosphate ammoniaco-magnésienne qui est ensuite transformé par calcination en pyro-phosphate de magnésie et pesé comme tel. Voici les résultats calculés en P^2O^5 :

Mélange non bouilli.....	0,0223
Mélange bouilli (ferment détruit):.....	0,0140

Etant donnée la différence sensible en P^2O^5 entre le mélange bouilli et non bouilli, *nous concluons à la présence de phosphatase dans notre poudre de foie.*

(90) Umeno. — Studien über Phosphatase. Biochem. Zeitschr. 1931, CCXXXI, p. 347.

Salolase (Amylsalicylase)

On rencontre ce ferment dans le foie, dans le rein, dans la rate, dans le poumon, dans le cerveau, etc., chez l'homme et certains animaux. Il a le pouvoir de dédoubler le salol, en acide salicylique et phénol. Il était intéressant de le rechercher dans notre poudre de foie. A cet effet, 0 gr. 5 de poudre ont été mélangés avec 20 cc. d'eau distillée additionnée de 0 gr. 2 de salol et 10 gouttes de toluène.

D'autre part, nous avons mélangé 0 gr. 5 de poudre avec 20 cc. d'eau distillée. Nous l'avons porté à l'ébullition pour détruire les ferments soupçonnés. Après refroidissement, nous y avons également ajouté 0 gr. 2 de salol. Nous avons mis le tout à l'étuve pendant quarante-huit heures. Après ce temps, nous avons déféqué les deux filtrats avec du fer colloïdal et dans le filtrat, nous avons cherché à caractériser le phénol et l'acide salicylique.

Voici nos résultats :

Filtrat non bouilli : réactions positives.

Filtrat bouilli (ferment détruit) : réactions négatives.

Par suite, *nous concluons à la présence de salolase dans notre poudre de foie.*

Les ferments des protides et leurs dérivés

D'une façon générale, les ferments des protides scindent les molécules entre l'azote et le carbone, alors que les lipases détachent des molécules les restes oxygénés. Suivant les conceptions actuelles, les ferments de protides comprennent :

1° Les PROTEASES : *peptase* ou *pepsine*, qui dédoublent les protides en albumoses et polypeptides; *tryptase* ou *trypsine*, qui dédoublent les protides en polypeptides, peptides, et acides aminés ; *papaïne*, dont les produits de dédoublement sont des polypeptides.

2° Les *peptidases* ou *ereptases*, attaquant le groupement CO-NH donnant des polypeptides : Polypeptides —> acides aminés.

3° Le *lab-ferment* ou *chymase*.

4° La *trombase*, dont l'existence en tant que ferment est douteuse (Rettger).

5° Les AMIDASES : *urease :* qui transforment l'urée en carbonate d'ammonium; *arginase :* ayant pour effet le dédoublement de l'arginine en urée et ornithine ; *hippuricase :* agissant sur l'acide hippurique en le décomposant en glycocolle et en acide benzoïque;

Les ferments du type de la pepsine et de la trypsine paraissent sinon des ferments généraux des cellules, du moins sont très répandus dans les tissus animaux et d'une importance capitale pour la vitalité de la cellule animale.

Peptase (Pepsine)

La pepsine est un ferment protéolytique qui dédoulbe les albuminoïdes par fixation d'eau.

L'action protéolytique de la pepsine ne se produit qu'en milieu acidé, l'acide d'élection étant l'acide chlorhydrique. Le dédoublement pepsique se ferait en plusieurs phases.

Contrairement à ce qu'on croyait autrefois, la dislocation de l'albumine sous l'influence de la pepsine ne s'arrête pas aux peptones. Quand l'action de ce ferment prétéolytique est suffisamment prolongée, elle est plus énergique et on peut aboutir aux polypeptides.

Tryptase (trypsine)

Elle agit dans le même sens que la pepsine, mais son action va plus loin, alors que la pepsine donne surtout des polypeptides, la trypsine transforme les matières albuminoïdes ou bien en polypeptides, plus simples que ceux obtenus avec la pepsine, mais surtout en acides aminés. D'autre part, tandis que la pepsine n'agit qu'en milieu acide, la trypsine, elle, exige un milieu neutre ou légèrement alcalin.

Pour leur recherche, nous avons préparé dans les conditions prescrites par le Codex pour l'essai d'une pepsine et d'une pancréatine, une série de flacons, 1° avec fibrine; 2° sans fibrine, pour pouvoir déterminer quelle part est attribuée à l'autolyse de la poudre de foie dans le dosage des acides-aminés. Le tout est porté au B. M. à 50°, agité de quart d'heure en quart d'heure, pendant les premières six heures ; nous observons une dissolution de la fibrine dans le flacon contenant la poudre de foie. Au bout de trente-six heures de digestion, nous avons filtré et pratiqué l'essai à l'acide azotique ainsi que le dosage des acides aminés selon la méthode de Soerénsen :

Principe de la méthode. — Si l'on ajoute du formol à un liquide contenant un acide aminé, le formol réagit sur le radical NH^2 et opère le « bloquage de la basicité ». La molécule prend alors un caractère acide, acidité mesurable au moyen de la soude.

Mode opératoire. — On prélève 10 cc. de digesté, on ajoute 10 cc. d'eau, puis 10 gouttes de solution de phénolphtaléine, enfin de la soude à neutralisation. On ajoute alors 25 cc. de formol commercial exactement neutralisé. La coloration rose disparaît par suite de la libération des radicaux acides. On verse ensuite de la soude décinormale jusqu'à réapparition de la teinte rose. On note le volume N de soude versée. Les résultats s'expriment généralement en centimètres cubes de soude décinormale employée. On peut également les exprimer en azote en appliquant la formule :

$$0{,}0014 \times N \times V/10$$

N représente le nombre de centimètres cubes de soude versée après addition de formol et augmentés de 1/30, et V le volume total du digestat.

Les résultats positifs de nos essais sont consignés dans le tableau ci-dessous :

N°	Composition des mélanges		Liquéfaction de la fibrine	Touche azotique	NaOH N/10 en cm^3 pour 10 cm^3 de digesté (méthode Sœrensen)
1.	Poudre de foie	0 gr. 6			
	HCl env. à 3 0/00	30 cm^3	+	—	2,35
	Fibrine	1 gr.			
2.	Fibrine	1 gr.			
	Pepsine	0 gr. 2	+	—	2,86
	HCl env. à 3 0/00	30 cm^3			
3.	Fibrine	1 gr.			
	HCl env. à 3 0/00	30 cm^3	—	+	1,41
4.	Fibrine	1 gr.			
	CO^3Na^2 à 1 0/00	30 cm^3	+	—	3,6
	Poudre de foie	0 gr. 6			
5.	Fibrine	1 gr.			
	CO^3Na^2 à 1 0/00	30 cm^3	+	—	17,24
	Pancréatine	0 gr. 2			
6.	Fibrine	1 gr.			
	CO^3Na^2 à 1 0/00	30 cm^3	—	+	1,14

Ces résultats nous indiquent la présence de peptase et de tryptase dans notre poudre de foie.

Ereptase (Erepsine)

Ce ferment attaque les groupements CO-NH et donne comme produits de dédoublement des polypeptides et finalement des acides aminés.

D'après Vernon (91), le rein, le pancréas, l'intestin, sont les plus riches en érepsine, après viennent la rate et le foie, puis le cœur, les muscles, le squelette et enfin le cerveau et le sang. Pour la recherche de l'érepsine dans notre poudre de foie, nous nous sommes servis de la méthode de Löb et Higuchi (92).

Nous avons agité 3 gr. de poudre de foie dans 300 cc. d'eau distillée pendant deux heures à la machine à agiter. Après un repos de douze heures, et filtration, nous avons ajouté goutte à goutte au filtrat une solution d'acétate d'uranium à 1 % aussi longtemps qu'un précipité se formait.

(91) Vernon. — Journ. of physiol. XXXII, p. 33-50, 1904.

(92) Löb W. et Higuchi S. — Zur Kenntnis der Placentaenzyme. Biochem. Zeitschr., 1908, XXII, p. 316.

Ce dernier a été recueilli sur un filtre, lavé et dissous par addition lente d'une solution de carbonate de soude à 0,2 %.

Le liquide a été soumis à une deuxième filtration après un repos de douze heures. De la solution limpide, nous avons prélevé 50 cc. et les avons mélangés avec 1 cc. d'une solution de peptone de Wite à 1 %.

Ce mélange a été divisé en cinq tubes à essais. Nous avons partagé également une autre prise d'essai de 50 cc. de la solution de carbonate de sodium en cinq tubes, mais sans addition de peptone.

Le tout a été placé à l'étuve à 38°. A intervalles déterminés, nous avons retiré un tube avec peptone, auquel nous avons ajouté de la soude concentrée en excès et de la solution de sulfate de cuivre très diluée (réaction de Biuret).

Nous avons ajouté aux tubes à essais qui ne contenaient pas de peptone de Wite 0,2 cc. de cette solution à 1 % et avons pratiqué de la même façon la réaction de Biuret.

Cette comparaison nous permettait de constater la différence d'intensité de la réaction de Biuret dans la solution essayée et dans la solution témoin, qui contenait encore toute la quantité de peptone dans le même état.

Nous avons pu ainsi constater nettement la présence de l'*érepsine*.

Nucléase

Ce ferment dédouble les nucléo-albumines en deux molécules d'albumine, en pentoses, en bases puriques, bases pyrymidiques et en acide phosphorique.

Il nous a paru intéressant de rechercher ce ferment dans la poudre de foie. L'extrait a été préparé de la même façon que pour la phosphatase. Nous avons employé le nucléate de sodium, pour constater l'action fermentaire :

10 cc. du mélange sont traités comme pour la phosphatase, pour doser l'acide phosphorique libéré. Voici nos résultats calculés en P^2O^5 :

Mélange non bouilli..... 0,0428
Mélange bouilli au préalable (ferment détruit).. 0,109

Etant donné la différence sensible entre ces chiffres en P^2O^5 dosés, *nous concluons à la présence d'une nucléase dans notre poudre de foie.*

Uréase

Ferment qui transforme l'urée en carbonate d'ammonium. Tanaka (93) l'a trouvé dans la rate de porc.

Il était intéressant de le rechercher dans notre poudre de foie de porc. Pour cela, nous avons chargé des flacons avec les mélanges indiqués dans le tableau ci-dessous. Après un séjour à l'étuve de deux jours et cinq jours, nous avons prélevé une partie du liquide. Sur 10 cc. de ce filtrat, nous avons pratiqué le dosage d'ammoniaque dans l'appareil de Jovanovitch en déféquant au préalable par le fer colloïdal.

Désamidase (Amidase)

Ferment dissociant l'asparagine, le glycocolle et autres acides aminés, en produisant de l'ammoniaque. Nous l'avons également cherché dans notre poudre de foie. Nous avons dispose les essais de la même façon que pour l'uréase en remplaçant l'urée par le glycocolle. Voici nos résultats :

N°	Composition des mélanges		SO^4H^2 N/70 en cm^3 pour la neutralisation de l'ammoniaque	
			après 2 jours	après 5 jours
1.	Poudre de foie	1,5 gr.	1,35	1,43
	Urée	0,25 gr.		
	Eau distillée	75,0 cc.		
	Toluène	0,5 cc.		
2.	Poudre de foie	1,5 gr.	0,40	0,50
	Eau distillée	75,0 cc.		
	Toluène	0,5 cc.		
1.	Poudre de foie	1,5 gr.	1,47	1,51
	Glycocolle	0,25 gr.		
	Eau distillée	75,0 cc.		
	Toluène	0,5 cc.		
2.	Poudre de foie	1,5 gr.	0,45	0,50
	Eau distillée	75,0 cc.		
	Toluène	0,5 cc.		

Il est permis de conclure à la présence d'une uréase et d'une désamidase dans notre poudre de foie.

(93) Tanaka T. — Zur Kenntnis der Milzenzyme. Biochem. Zeischr., 1911, XXXVII, p. 249.

Arginase

Ce ferment transforme l'arginine en urée et en acide diamino-pentanoïque (ornithine).

Il a été découvert par Kosel aussi bien dans l'extrait de foie que dans les macérations intestinales.

On le trouve dans le foie, le rein et le thymus de veau, dans les muscles de chien, dans le tissu lymphatique du bœuf ; le sang, la rate, la bile et le suc pancréatique du chien en sont dépourvus (94).

Nous avons cherché l'arginase dans le foie d'après la méthode suivante :

Dans les flacons, nous avons introduit les mélanges indiqués au tableau ci-dessous. Le tout a été porté à l'étuve à 37° pendant quarante-huit heures. Ce temps de digestion écoulé, on procède à la filtration des contenus des deux flacons. On prélève de chaque filtrat 30 cc. et on les chauffe. Les matières albuminoïdes coagulent. On ajoute à chaud 10 cc. d'une solution d'acide phosphotungstique à 10 %. On chauffe quelques minutes et on filtre. Le précipité contient : les matières albuminoïdes et l'arginine non transformés. On filtre, on lave soigneusement le précipité. On reçoit le filtrat dans un ballon Kjeldahl et on procède à la destruction de matières organiques après avoir concentré le liquide autant que possible. Quand le liquide dans le ballon est incolore, on transvase le tout dans une capsule de porcelaine où l'on évapore l'excès d'acide. On étend ensuite jusqu'à 100 cm³ avec de l'eau distillée. On pratique le dosage d'azote dans l'appareil de Parnas-Wagner sur 5 cm³ de filtrat. Voici nos résultats :

N°	Composition des mélanges		SO^4H^2 X 70 en cm³ nécessaire pour neutraliser l'ammoniaque
1.	Poudre de foie	1,0 gr.	14,05
	Arginine	0,2 gr.	
	Eau distillée	50,0 cc.	
	Toluène	0,5 cc.	
2.	Poudre de foie	1,0 gr.	6,5
	Eau distillée	50,0 cc.	
	Toluène	0,5 cc.	

Ayant une telle différence entre les deux chiffres d'azote, *nous pouvons conclure à la présence d'arginase dans notre poudre de foie.*

(94) Kossel — Zeitschrift physiol. Chem. 1904, XLI, p. 321 ; 1904, XLII, p. 181.

Hippuricase (histozyme)

Ce ferment découvert par Schmiedeberg (95) qui le nomma histozyme, transforme l'acide hippurique en glycocolle et en acide benzoïque.

Pour le rechercher, nous avons suivi la méthode de K. Maeda (96) en dissolvant 0 gr. 4 d'hippurate de sodium dans 20 cm³ d'eau distillée, nous y avons ajouté 1 gr. de poudre de foie en agitant fortement. Après avoir additioné de 2 à 3 cm³ de toluène, nous avons mis le mélange pendant 3 jours à l'étuve à 38°. Ce temps passé, nous avons fait bouillir un instant, refroidi et déféqué au fer colloïdal. Le filtrat limpide a été légèrement acidulé par l'acide chlorhydrique et épuisé quelques fois dans une ampoule à décantation avec de l'éther de pétrole (P. E. 60°). Les solutions réunies ont été filtrées et l'éther de pétrole évaporé dans le vide. Il s'est formé au fond du ballon des aiguilles blanches facilement reconnaissables au microscope; elles ont l'aspect de l'acide benzoïque. Le point de fusion démontre qu'il s'agit bien de ce dernier (120-121°). D'un autre côté, nous avons fait digérer 0 gr. 4 d'hippurate de sodium avec de l'eau et du toluène sans poudre de foie, puis nous avons suivi exactement le même procédé indiqué plus haut. Le résultat a été négatif. *Cela nous prouve la présence de l'hippuricuse dans la poudre de foie.*

Oxydases, peroxydases et catalases

C. Oppenheimer a dit des oxydases qu'elles constituaient l'un des chapitres les plus délicats et les plus difficiles de la chimie des ferments.

---

(95) Schmiedeberg. — Ueber Oxyde und Synth. im Tierkörper. Arch. für experim. Pathol. 1881, XIV, p. 288, 379, cité par Oppenheimer, L. c.

(96) Maeda K. — Fermente der Placenta Biochem. Zeitschr. 1923, 143, p. 361.

Oxydases

Les oxydases oxydent certains phénols en donnant des quinones. Ces oxydases joueraient un rôle important dans la formation des pigments animaux à partir de diphénols. Remarquons que les éléments minéraux : fer (Warburg), manganèse (G. Bertrand), cuivre semblent jouer un rôle fondamental dans ces oxydations, vraisemblablement par la formation des complexes intermédiaires (peroxydes métalliques) absorbant et restituant l'oxygène.

Ces éléments minéraux interviendraient donc d'une manière analogue à celle de l'hémoglobine et de la chlorophylle et Y. Schaeffer se demande s'il y a lieu de classer ces oxydases parmi les ferments.

Recherche des oxydases (aéroxydases)

Nous avons fait nos essais avec un extrait de poudre de foie en faisant macérer pendant plusieurs heures 5 gr. de poudre dans 20 fois son poids d'eau. Après de fréquentes agitations, nous avons filtré, et comme la coloration était assez foncée, un changement de couleur était difficile à apprécier. Pour cette raison, nous avons préparé un extrait plus clair et limpide en déféquant une partie de filtrat de la macération avec du fer colloïdal.

Il est très probable que les oxydases peuvent être modifiées; sinon éliminées en grande partie par suite de cette opération. Tous nos essais ont été menés avec ces deux extraits.

Dans ces extraits, nous avons cherché à caractériser *la pyrogallase*, *l'adrenalase*, *la tyrosinase* et la *dioxyphenylalaninase*.

Nous indiquons les résultats obtenus dans le tableau suivant :

N°	COMPOSITION DU MELANGE		Changement de couleur
	a) **Pyrogallase**		
1.	Extrait de foie à 1/20	10 cc.	Les deux changeaient de couleur à peu près en même temps
	Pyrogallol à 1 0/0	1 cc.	
2.	Eau distillée	10 cc.	
	Pyrogallol à 1 0/0	1 cc.	
	b) **Adrenalase**		
1.	Extrait de foie à 1/20	10 cc.	
	Suprarenium à l'état de chlorhydrate à 1 %	10 gouttes	Dto
2.	Eau distillée	10 cc.	
	Suprarenium à l'état de chlorhydrate à 1 %	10 gouttes	
	c) **Tyrosinase**		
1.	Extrait de foie à 1/20	10 cc.	
	Tyrosine à 1 0/0	1 cc.	
2.	Eau distillée	10 cc.	Dto
	Tyrosine à 1 0/0	1 cc.	
	d) **Dioxyphenylalaninase**		
1.	Extrait de foie à 1/20	10 cc.	
	Dioxyphénylalanine à 1 0/0	1 cc.	Dto
2.	Eau distillée	10 cc.	
	Dioxyphénylalanine à 1 0/0	1 cc.	

Sur une autre partie d'extrait filtré non déféqué au fer colloïdal, nous avons ajouté quelques gouttes d'une solution aqueuse de gaïacol à 1 %.

En comparant avec la même prise d'essai d'extrait sans gaïacol, aucun changement de couleur n'a eu lieu. *Donc absence d'oxydases.*

Hydroxydases (Hydrolase, Aldehydase)

Un ferment qui a été appelé aldehydase et qu'on a fait agir tout d'abord sur l'aldéhyde salicylique, a le pouvoir de transformer cette substance en acide salicylique et alcool salicylique. Il a donc le pouvoir

d'oxyder et de réduire en même temps. On le rencontre en grande quantité chez les mammifères dans le foie, la rate, les poumons, en très petites quantités dans le sang, le rein, le pancréas et les muscles. On le trouve également dans le lait de vache; le lait de femme n'en renferme pas.

Recherche : Nous avons fait digérer un gramme de poudre de foie avec 10 cm^3 d'eau distillée en ajoutant 1 cm^3 d'aldehyde salicylique, puis quelques gouttes de toluène pendant 48 heures à 37°. Après ce temps, le mélange a été acidulé, légèrement bouilli et filtré. Le filtrat est concentré au B. M. à la consistance de sirop. On reprend par l'alcool à 96° et l'extrait est filtré. On évapore l'alcool, on reprend le résidu par l'eau et on épuise par l'éther. L'éther évaporé, on dissout le résidu dans l'eau et on caractérise l'acide salicylique par le perchlorure de fer. La réaction a été positive.

La salicylase se trouve donc en très petite quantité dans la poudre de foie.

Peroxydases et catalases

Ces ferments décomposent les peroxydes, l'eau oxygénée en particulier, en libérant l'oxygène atomique actif capable d'être ensuite fixé par des corps aromatiques (accepteurs), dont l'oxydation indirecte se manifeste par un changement de coloration.

La catalase qui décompose le peroxyde d'hydrogène H^2O^2 en H^2O et O moléculaire fonctionnant vraisemblablement comme accepteur d'H.

Schaeffer prétend qu'il s'agirait, dans ce cas, d'une réaction de défense de l'organisme ayant pour but la destruction de peroxydes toxiques en excès.

Mais, d'après Wieland, les oxydations biologiques résulteraient indirectement de l'activation de l'hydrogène sous l'influence de l'action de certains ferments, les déshydrases ou réductases (Abelous et Gérard).

La poudre de foie décompose énergiquement une solution d'eau oxygénée en moussant fortement. Elle bleuit de suite en présence de teinture fraîche de gaïac, et donne également une coloration rouge grenat intense avec une solution de gaïacol à 1 %.

De ces essais on peut donc conclure à la présence de peroxydase et d'une catalase.

Les oxydases sont peu stables, les peroxydases par contre, qui sont répandues chez les plantes et dans les tissus animaux, sont très stables.

Ferments réducteurs

Tous les tissus renferment des ferments réducteurs aisément décelés par la méthode d'Ehrlich : le bleu d'alizarine est facilement réduit à l'état d'un composé incolore et redevient bleu par oxydation.

De même, le bleu de méthylène donne par réduction un léuco-dérivé.

H. Roger, étudiant le pouvoir réducteur des tissus, par cette méthode, a observé qu'ils se rangeaient dans l'ordre suivant :

Chez le cobaye et le lapin : foie > rein > cerveau.

Chez le chien : cerveau > rein > foie.

Nitrase

C'est un ferment soluble qui réduit les nitrates en nitrites. Se trouve dans les levures, chez certaines bactéries, graminées et autres végétaux.

MM. E. Abelous et E. Gérard (97) ont établi l'existence dans l'organisme d'un ferment soluble réduisant les nitrates; ce ferment est d'une

---

(97) MM. Abelous E. et Gérard E. — Sur la présence dans l'organisme animal d'un ferment soluble réduisant les nitrates. C. R. Acad. de Sc. 1899, CXXIX, p. 56.

activité inégale dans les différents organes. Ces auteurs examinant les organes du cheval ont fait ranger cette activité d'après l'ordre décroissant :

Foie, rein, capsules surrénales, poumons, testicules, intestin, ovaire, pancréas, rate, muscles, cerveau, etc...

Il était intéressant de rechercher le même ferment dans la poudre de foie du porc.

Nous avons fait une macération de 2 gr. de poudre de foie dans 20 cm^3 d'eau distillée qu'on additionne de 0 gr. 5 de nitrate de potassium pur et de chloroforme pour éviter l'intervention de microorganismes, on laisse séjourner à l'étuve à 40°-42° pendant 24 heures. Après ce temps écoulé, nous avons pu faire les constatations suivantes :

1° Le filtrat de cette macération nitraté présente les réactions caractéristiques des nitrites. (Réaction de Tromsdorff en liqueur acétique, de Griess à la métaphenylène-diamine, de Denigès à la résorcine et à l'acide sulfurique);

2° Si on ajoute du nitrate de potassium à la macération de poudre de foie préalablement bouillie, il n'y a pas formation de nitrites;

3° On ne trouve pas les réactions d'acide azoteux dans les macérations, non nitratés de la poudre de foie.

De ces faits, *nous pouvons conclure à la présence d'une nitrase dans notre poudre de foie.*

La nitrase réduit aussi le nitrate d'ammoniaque, et aussi le Nitrobenzène en aniline. Il décolore le bleu de méthylène et paraît donner de l'aldehyde butyrique aux dépens de l'acide butyrique.

Philothion

De Rey Pailhade (98) a signalé dans les tissus animaux un ferment le philothion, capable de transformer le soufre en hydrogène sulfuré.

Cette découverte coïncidant avec la mise en évidence par Armand Gautier et par Hélier du pouvoir réducteur des tissus permettait de con-

(98) De Rey Pailhade, cité par Albert Morel. — Précis de technique chimique. Doin, édit., Paris, 1909, p. 779.

cevoir l'existence de réductases. Ce ferment a été signalé dans le suc de la levure et dans l'albumen de grain de Ricinus Communis.

Abelous et Ribaut (99) concluent d'autres expériences que la production de l'hydrogène sulfuré par les extraits d'organes seuls ou additionnés de soufre ne saurait être considéré comme un phénomène diastasique, parce que des matières albuminoïdes possèdent à des degrés divers le pouvoir de dégager H^2S, quand on les chauffe soit seules, soit en présence de soufre.

Mise en évidence de philotion : on introduit 2 gr. de poudre de foie dans 20 cm^3 d'eau chloroformée à 4 % dans un flacon à large col fermé par un bouchon portant à sa partie inférieure un papier à l'acétate de plomb. On additionne d'un peu de fleur de soufre.

Après 24 heures de séjour à l'étuve à 37°, nous avons pu constater le noircissement du papier à l'acétate de plomb indiquant la formation d'hydrogène sulfuré.

La poudre non additionnée de soufre a donné un résultat négatif.

Nous concluons donc dans nos essais que la poudre de foie renferme du philothion.

Recherche de Glutathion

Ce composé joue un rôle des plus importants dans les réactions d'oxydation et de réduction de l'organisme : c'est un dipeptide sulfureux qui a été l'objet de nombreuses recherches.

Blanchetiere et Binet (100), par exemple, ont fait une enquête sur la présence de glutathion dans les différents organes du chien. Nous avons essayé de le caractériser par la technique de Fabre (101), qui se base sur le fait que le glutathion donne une réaction colorée avec la nitroprussiate de sodium, qui est due à son groupe sulfhydrile. La réaction fut très légèrement positive. *Nous pouvons conclure à la présence de glutathion en petite quantité dans notre poudre de foie.*

---

(99) Abelous et Ribaut. — C. R., juillet 1903, cité par Albert Morel. — L. c.

(100) Blanchetière A., Binet L. — Sur la teneur en glutathion des divers organes du chien. C. R. Soc. Biol., 1926, XCIV, p. 494, 1227 et XCV, p. 558, 1098.

(101) Fabre. — Le Glutathion. Journ. Ph. et Ch., 1927 [8], p. 219, 245.

CONCLUSIONS

En définitive, nous avons mis en évidence la présence dans la poudre de foie étudiée :

Une *amylase*, une *maltase*, une *glycogénase*, une *sucrase*, une *émulsine*, une *salicase*, une *lipase*, une *phosphatase*, une *salolase*, une *peptase*, une *tryptase*, une *éréptase*, une *nucléase*, une *hippuricase*, une *peroxydase*, une *catalase*, une *nitrase* et le *glutathion*.

Nous croyons à la présence probable :

D'une *inulase* et du *philothion*.

Par contre, nous n'avons eu que des *résultats négatifs* en ce qui concerne la *lactase* et les *oxydases vraies*.

Enfin, nous sommes heureux d'être les premiers à avoir reconnu l'existence, dans la poudre de foie de porc, d'une *glycolase*, d'une *arbutase*, d'une *helicase*, d'une *lécithase*, d'une *uréase*, d'une *désamidase* et d'une *aldéhydase*.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Cette étude chimique de la poudre de foie n'avait pas comme but d'expliquer l'action physiologique du foie. La chimie analytique ne donne que la composition de la substance cellulaire qui abrite les principes actifs : catalyseurs, ferments d'analyses et synthèses. La physiologie et la clinique peuvent seules nous fixer sur la valeur thérapeutique des préparations opothératiques.

Il y a pourtant dans toutes les cellules vivantes des séries de matériaux de constructions permanents et indispensables : substances minérales, lipides, ferments, matières protéiques, composés nucléiques, phosphatides, etc... dont la présence est constante dans le même tissu vivant et qui, par conséquent, devraient être présents dans la poudre desséchée. Le but à atteindre est d'obtenir une poudre d'organes qui soit la représentation aussi fidèle que possible de l'organe frais et dans laquelle les constituants chimiques du tissu et leur haute activité physiologique ne se trouvent pas atténués. La poudre doit être équivalente à l'organe frais. Sa teneur en ces substances n'est certes pas rigoureuse pour un même tissu vivant. Elle varie, comme nous l'avons indiqué au cours de notre travail, avec les espèces animales, et pour une espèce donnée avec certaines circonstances physiologiques; mais ces variations oscillent entre des limites assez étroites.

Au cours de nos recherches, nous avons constaté l'absence de certains éléments, dont la présence a été mentionné dans le foie comme par exemple les ferments lactase et les oxydases vraies.

Nous estimons que ce manque de ferments n'est pas dû à la technique de préparation de notre échantillon. Mais il est possible que ces substances soient altérées ou hydrolysées pendant la période de conservation.

Aussi, nous croyons avoir apporté quelques résultats nouveaux sur la composition chimique du foie en élargissant ainsi les faits pour identifier, essayer, contrôler au point de vue du mode de préparation et de l'état de conservation de la poudre de foie provenant du porc.

Résumons nos résultats obtenus :

1) **Matières minérales** : En outre des métaux comme le *sodium*, le *potassium*, le *calcium*, le *magnésium* et le *fer* dont la présence dans le foie a été signalée, nous sommes heureux d'être les premires à avoir recherché et dosé les éléments catalytiques importants existant dans la poudre de foie de porc qui ne se rencontrent qu'en très petites quantités, souvent même à l'état de traces comme : *zinc*, *cuivre*, *nickel*, *cobalt*, *titane*, *manganèse* et *arsenic*.

Il faut remarquer la richesse particulière de notre poudre de foie en *fer*, en *potassium*, en *soufre* et en *phosphore*. Nous avons dosé ce dernier élément sous ses différentes formes, voici nos résultats :

Phosphore total = 1,16 %; *phosphore lipidique* = 0,438 %;

Phosphore nucléique = 0,242 %.

2) **Concentration en ions H** (**Ph.**).

Le Ph de notre échantillon de foie est 5.6 c'est-à-dire *nettement acide*.

3) **Lipides** : Nous avons dosé dans la poudre de foie l'*insaponifiable* dans lequel nous avons déterminé la *cholestérine*, dont le foie est riche. Puis les *acides gras* avec la détermination de leurs *différents indices*.

4) **Matières azotées** : L'azote a été dosé sous ses formes différentes existantes dans notre poudre de foie notamment :

Azote total = 11,2 %; *azote soluble* (*non albuminoïde*) = 2,43 %; *azote albuminoïde* = 8,69 %; *matières albuminoïdes* = 54,31 %; ammoniaque = 1,25 %.

5) Nous avons eu soin au cours de ces recherches de comparer les différents procédés de destruction des matières organiques avec l'aide de différents catalyseurs : acide sulfurique en présence d'acide oxalique, ou d'oxalate de potassium, ou de sulfate de cuivre, ou de sulfate de fer, ou de sulfate de manganèse ou de mercure, ou de sulfate de mercure, et au moyen de l'acide perchlorique en présence d'acide sulfurique. *Parmi ces nombreux essais nous donnons la préférence au procédé de destruction par l'acide sulfurique en présence de sulfate de cuivre et de sulfate de potassium, qui nous a donné les meilleurs résultats.*

6) **Ferments solubles** : Il ressort avec évidence de nos expériences que le foie renferme un *grand nombre de ferments* dont le rôle est d'une haute importance dans le métabolisme intraorganique ; certains d'entre eux avaient déjà été signalés, mais nous sommes heureux d'être les premiers à avoir démontré la présence dans la poudre de foie de porc des ferments solubles suivants :

Glycolase, Arbutase, Hélicase, Uréase, Désamidase, Arginase et *Aldéhydase.*

Vu :
Strasbourg, le 3 décembre 1932
Le Président du Jury,
Dr E. LABORDE

Vu et approuvé :
Strasbourg le 5 décembre 1932
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie
Pour le Doyen, l'Assesseur,
A. SARTORY

Vu et permis d'imprimer :
Strasbourg, le 7 décembre 1932
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,
J. DRESCH

Bibliographie

Cette bibliographie comporte pour chaque référence le nom de l'auteur ou ceux des auteurs, le titre de la publication dans la langue originale, le titre du périodique souvent abrégé, et en général, trois chiffres correspondant respectivement à l'année, au tome et à la page initiale du tome.

Abelous E. et Girard E. — Sur la présence dans l'organisme d'un ferment soluble réduisant les nitrates. C. R. Acad. Sc. 1899, t. 129, p. 56.

Abelous et Ribaut. — C. R. Juillet 1903 cité par Albert Morel, Précis de Technique Chimique, p. 780. Doin édit. Paris 1909.

Astruc A. et Canals E. — Sur un dialyseur rotatif. *Journ. Pharm. et Chim.* (8), 1925, t. 2, p. 14.

Batteli F. und Stern L. — Die Aldehydase in den Tiergeweben. Biochem. Zeitschrift t. 29, p. 130.

Beaumé. — Eléments de Pharmacie 1797, p. 77.

Berg. — Sur une réaction des sucres à fonction aldehyde. *Bull. Soc. Chim.* 1904 (3), t. 31, p. 1216.

Bertrand G. — Sur l'intervention du manganèse dans les oxydations provoquées par la laccase et sur l'action oxydante des sels manganeux sur la constitution chimique des oxydases. C. R. Acad. Sc. 1897, t. 124, p. 1053, 1355.

Bertrand G. — Le dosage de sucres réducteurs. *Bull. Sc. Pharmacol.* 1907, p. 7.

Bertrand G. et Javillier M. — Sur une méthode permettant de doser de très petites quantités de zinc. *Bull. Soc. Chim. de Paris*, t. 3, 1908, p. 115.

Bertrand G. et Mme Rosenblatt. — Recherches et dosage de petites quantités de manganèse en particulier dans les substances organiques. *Bull. Sc. Pharmacol.* 1911, p. 195 et *Bull. Soc. Chim.* 1911, t. 9, p. 361 et C. R. Ac. Sc. 1921, t. 173, p. 333.

Bertrand G. et Médigrecéanu F. — Recherches sur la présence du manganèse dans la série animale. *Bull. Soc. Chim.* 1912, t. 9, p. 834 et 857 et C. R. Acad. Sc. 1912, t. 154, p. 1450.

Bertrand G. et Thomas P. — Guide pour les manipulations de chimie biologique, 1919.

Bertrand G. et Vladesco. — Recherches sur la répartition du zinc dans l'organisme du cheval. *Bull. Soc. Chim.* 1921, t. 29, p. 53.

Bertrand G. et Benzon. — Sur l'importance du zinc dans l'alimentation des animaux. Expérience sur les souris. C. R. Acad. Sc. 1922, t. 175, p. 289.

Bertrand G. et Morkagnatz M. — Sur une méthode permettant de séparer quantitativement d'un mélange complexe de très petites quantités de cuivre, de zinc, de nickel et de colbalt. *Bull. Soc. Chim.*, 1923, t. 32, p. 1539.

Bertrand G. et Machebœuf M. — Sur la présence de nickel et du cobalt chez les végétaux et les animaux. C. R. Acad. Sc., t. 180, p. 1380, 1993, cité par *Bull. Soc. Chim.*, 1925, t. 38, p. 1365.

Bertrand G. et Mme Voronca-Spirt. — Recherches sur la présence et la répartition du titane dans les plantes phanérogames et cryptogames. *Bull. Soc. Chim.* 1929, t. 45, p. 104 ; 1930, p. 102, t. 47.

Bertrand G. et Mme Voronca-Spirt. — Recherches sur la présence et la répartition du titane chez les animaux. *Bull. Soc. Chim.*, 1930, t. 47, p. 643.

Berger L. — Le rapport Ca/Mg dans quelques urines normales et pathologiques. Th. Doct. Pharm. Montpellier, 1929.

Berg. — Sur une réaction des sucres à fonction aldéhyde. *Bull. Soc. Chim. de France*, 1904 (3), t. 31, p. 1216.

Blanchetière A. — Sur une méthode de dosage du sodium. *Bull. Soc. Chim.* 1923, 33, p. 807.

Blanchetière A. et Binet L. — Sur la teneur en glutathion en divers organes du chien. C. R. Soc. Biol., 1926, t. 44, p. 494, 1227, t. 45, p. 558, 1098.

Boivin A. — Nouvelle méthode microanalytique de dosage de l'urée en biologie. Th. Doct. en Médecine Montpellier 1926.

Bourget. — Th. Doct. Méd. Paris 1900.

Brown-Sequard. — Des effets produits chez l'homme par des injections sous-cutanées d'un liquide retiré des testicules de cobayes et de lapins. C. R. Soc. Biol. 1889, p. 415.

Brown-Sequard et d'Arsonval. — De l'injection des extraits liquides provenant des glandes et des tissus de l'organisme comme méthode thérapeutique. C. R. Soc. Biol. 1891, t. 43, p. 248, 265.

Byla P. et Penau H. — Les produits biologiques médicinaux 1924. Maloine et Fils, édit. Paris.

Canals E. et Coutenceau P. — Quelques recherches sur les poudres d'ovaires A. F. A. S. Bordeaux 1923.

Carnot P. — Médicaments animaux. Opothérapie. 1911, Baillère et Fils, édit., Paris.

Clarc. — The determination of hydrogen ions. Williams and Wilkins. Edit. Baltimore 1922.

Cloetta A. — Ueber das Vorkommen von Inosit im Tierischen Körper. Liebigs Annalen der Chemie und Pharmacie 1856, t. 99, p. 289.

Choay E. — Des extraits opothérapiques, mode de préparation, rendement, posologie, activité diastasique. Th. Doct. Pharm. Paris 1910-11.

Codex medicamentus gallicus, 1908.

Copaux. — Procédé rapide pour doser l'acide phosphorique. C. R. Acad. Sc. 1921, t. 173, p. 656.

Coutenceau P. — Quelques recherches sur les poudres d'ovaires. Th. Doc. Pharm. Montpellier, 1924.

Creissent. — Considérations sur l'opothérapie. Th. Doct. Pharm. Strasbourg 1926.

Damiens A. — Sur le brome existant normalement dans les tissus animaux. *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1920, t. 27, p. 609 ; *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. 3, 1921, p. 95.

Daucan G. — Contribution à l'étude de rôle physiologique du Magnésium chez les végétaux. Th. Doct. Pharm. Montpellier 1928.

Denigès G. — *Bull. des Trav. de la Soc. de Pharm. de Bordeaux*, 1894, t. 34, p. 362.

Denigès et Chelle. — C. R. Acad. Sc., 1912, t. 155, p. 1010, *Bull. Soc. Pharmacie de Bordeaux*, 1917, t. 60, p. 75.

Denigès G. — Précis de chimie analytique 1913, Malloine et Fils, édit., Paris.

Derrien E. et Fontes G. — Chimie biologique médicale 1927. Baillère et Fils, édit., Paris.

De Rey Pailhade. — Cité par Morel Albert , l. c., page 779.

Dubois R. — Sur le cuivre normal dans la série animale. C. R. Soc. Biol. 1900, Série 11, p. 392.

Effront Jean. — Les catalyseurs biochimiques dans la vie et dans l'industrie. Paris, Dunod et Pinat, édit. 1914.

Emmerling et Reiser. — Cités par Effront, l. c., p. 567.

Faber F. — Die Kolorimetrische Bestimmung des Titans und ihre anwendbarkeit neben Eisen. *Chem.. Zeitung* 1907, p. 263.

Fabre R. et Penau H. — Examens chimiques généraux des poudres opothérapiques. *Journ. Pharm. et Chim.* (7) 1923, t. 27, p. 281.

Fabre R. et Penau H. — Sur un procédé de dialyse rapide et son application à la préparation de l'oxyde de fer dialysé. *Journ. Pharm. et Chim.* (8) 1923, t. 3, p. 100.

Fabre R. — Les propriétés chimiques et physiologiques des principes endocriniens. *Journ. Pharm. et Chim.* (8) 1926, p. 13, 27, 114, 168.

Fabre R. — Le glutathion. *Journ. Pharm. et Chim.* (8) 1927, p. 219, 245.

Fremy. — Encyclopédie chimique, IX, t. 4, 6.

Garola et Braun. — Dosage pondéral de la potasse. *Ann. des Falsifications*, 1917, p. 572.

Giaya Sinicha. — Le zinc dans l'organisme humain. C. R. Acad. Sc. 1920, t. 170, p. 906.

Gottwalt. — Zeitschr. f. physiol. ch. t. IV, p. 431, cité par Frémy (Encyclopédie chim. IX), l. c.

Garnier M. — Le rôle biologique du manganèse. Dosage du manganèse dans les cendres de plantes Lorraines. Th. Pharm. Nancy 1928.

GRABAR P. — Microméthode de dosage de sodium dans les milieux biologiques. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1929, t. 11, p. 58.

GRIGAUT. — Dosage colorimétrique de la cholestérine. *Journ. Pharm. et Chim.* 1914 (7), p. 146.

GRIMBERT. — *Journ. Pharm. et Chim.* (6), t. 17, p. 225.

GRISSON. — Inaugural-Dissertation. Rostock, 1887.

GUERITHAULT B. — Recherche sur la présence de cuivre chez les végétaux et dans l'organisme humain à l'état normal et pathologique (cancer). Thèse doct. Pharm. Paris 1927.

GUILLAUMIN. — Sur la détermination colorimétrique de la concentration en ions H+ des liquides biologiques. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), 1922, t. 25, p. 175, 221.

HALLIBURTON. — *Journ. of Physiol*, t. 13 et Jahr. f. Thiersch. 1892, t. 22, p. 26, cité par Frémy, l. c.

HENRIOT et CAMUS. — Sur le dosage de la lipase. C. R. Acad. Sc. 1879, t. 124, p. 235.

HESS PIERRE. — Etude botanique, chimique et pharmacodynamique de Toddalia Aculeata. Th. Doct. en pharm. 1930, Strasbourg.

HIGUCHI. — Biochem. Zeitschr. 1909, t. 17, p. 21-57.

HIRATA G. — Ueber die Mengenverhältnisse der Diastase in den einzelnen Organen verschiedener Tierarten. Biochen. Zeitschr. 1910, t. 27, p. 385.

HUSLER J. — Vorkommen einer Glycerophosphatase in tierischen Organen Biochem. Zeitschr. 1912, t. 39, p. 1.

JADIN F. et ASTRUC A. — Appareil producteur d'hydrogène pour la recherche de l'arsenic dans la méthode de Marsch. *Journ. Pharm. et Chim.* 1912, t. 5, p. 233.

JADIN F. et ASTRUC A. — C. R. Acad. Sc. 1912, t. 154, p. 893, t. 155, p. 291.

JADIN F. et ASTRUC A. — *Journ. Pharm. et Chim.*, 1912, t. 6, p. 529.

JADIN F. et ASTRUC A. — La répartition du manganèse dans le règne végétal. *Journ. Pharm. et Chim.* (7), 1913, t. 7, p. 155.

JAVILLIER M., ALLAIRE H. et Mlle GROC. — Sur un principe nouveau pour l'essai des poudres organothérapiques. *Journ. Pharm. et Chim.* (8), 1915, t. 1, p. 513.

Javillier M., Allaire H. et Mme Hinglais-Groc. — L'analyse des poudres organothérapiques, leur teneur en phosphore total, lipidique et nucléique. *Bull. Sc. Pharmacol.* 1925, t. 32, p. 641.

Javillier M. et Allaire H. — Sur le dosage du phosphore nucléïque dans les tissus des animaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1925, 7, p. 486.

Javillier M. et Allaire H. — Sur l'existence d'un indice de phosphore nucléique des tissus. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1926, t. 8, p. 924.

Juschtchenko J. — Uber den Nucleasgehalt verschiedener Organe des Menschen und der Tiere. Biochem. Zeitschr. 1911, t. 31, p. 78.

Justus. — Virchows Archiv., 1907, t. 190, p. 524.

Kahane F. — Le dosage du sodium par la méthode à l'Uranyle. *Bull. Soc. Chim.* 1930, t. 47, p. 193, 382.

Kan Kato. — Ueber Fermente in Bambusschösslingen Zeitschr. für physiol. 1911, t. 75, p. 456.

Kjehldahl. — Neue Methode zur Bestimmung des Stickstoffes in organischen Körpern. Zeitschr. für anal. chem. 1883, t. 22, p. 366.

Klein J. A. — Ueber das Vorkommen von Inosit im tierischen Körpern. Thèse Doct. Méd. Vétér. Giessen 1909.

Komanos. — Ueber die Verdauung des Inulins und seine Verwendung beim Diabetes mellitus. Th. Doct. Méd. Strasbourg. 1875.

Kohn Abrest E. — Méthode générale des recherches et dosages d'arsenic. C. R. Acad. Sc. 1920, t. 171, p. 1179-82.

Kossel. — Maly's Jahresber., 1881, t. 11, p. 108, et 1882, t. 12, p. 102, cité par Frémy, l.c.

Kossel. — Zeitschr. Physiolog. Chem., 1904, t. 41, p. 321; 1904, t. 42, p. 181.

Kumagawa-Suto. — Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung der Fette. Biochem. Zeitschr. 1908, t. 8, p. 212.

Labat. — Introduction à l'étude de la présence du brome dans les organes de l'homme. Th. Bordeaux 1912. C. R. Acad. Sc., 1913, t. 156, p. 255.

Lameland M. P. — Recherches chimiques et physiologiques sur les matières grasses et les lipoïdes du sang. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1921, t. 3, p. 163; 1923, t. 5, p. 111.

Laudat M. — Etude des méthodes récentes de dosage du sodium et de leur application à la biologie. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1928, t. 10, p. 757.

Legrand. — Annales de chimie analytique et de chimie appliquée, 1921, p. 240.

Lematte L., Boinot G. et Kahané E. — Dosage des minéraux contenus dans les principaux organes utilisés en opothérapie. *Journ. Pharm. et Chim.* (8), 1927, t. 5, p. 325, 361.

Lematte L., Boinot G. et Kahané E. — La composition minérale des tissus de l'homme et des animaux. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1928, t. 10, p. 553.

Lepinois E. — Etude historique, chimique et pharmacologique des principales préparations organothérapiques. Th. Doct. Pharm. Paris, 1899.

Lobstein E. — Recherches biochimiques sur le bacille tuberculeux. Th. Doct. ès Sciences, Strasbourg, 1922.

Löb. W. et Guttmann. — Zur Kenntnis der Placentaenzyme. Biochem. Zeitschr. 1909, t. 22, p. 316.

Löb W. — Beiträge zur Glycolyse, 1, Biochem. Zeitschr. 1910, t. 29, p. 316.

Löb W. et Guttman. — Zur Kenntnis der enzyme der Ovarien. Biochem. Zeitschr. 1912, 41, p. 445.

Maeda K. — Fermente der Placenta. Biochem. Zeitschr. 1923, t. 243, p. 361.

Maquenne L. et Demoussy E. — C. R. Acad. Sc., t. 152, p. 87.

Maquenne L. et Demoussy E. — Sur une réaction très sensible du cuivre, *Bull. Soc. Chim.* (4), 1919, t. 25, p. 272.

Maquenne L. et Demoussy E. — Le cuivre dans la terre et les plantes. *Bull. Soc. Chim.* (4), 1920, t. 27, p. 266 et C. R. Ac. Sc. t. 170, p. 87.

Mayer A. et Schaeffer G. — Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. *Journ. de Physiol. et Pathol. générale*, 1913, t. 15, p. 510, 534, 775.

Meillère M. G. — Contribution à l'étude de l'Inosite. *Journ. Pharm. et Chim.*, 1906 (6), t. 24, p. 245.

Mestrezat M. et Mlle Paul-Janet. — Présence dans l'urine d'un reste azoté que ne dose pas la méthode de Kjeldahl. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1921, 3, p. 88-94.

Mestrezat M. et Mlle Paul-Janet. — L'azote titrable par la méthode de Kjeldahl. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1921, 3, p. 105.

Molish H. — *Dingl. Polytech. Journal*, 1886, t. 261, p. 135.

Mousseron M. — Recherches chimiques sur le Brassica Nigra et son essence. Th. Doct. en Pharm. Montpellier, 1927.

Morel Albert. — Précis de technique chimique. Doin, édit., Paris, 1909.

Musculus et Von Mehring. — Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogen durch Diastas, Pancreas, Speichel und Leber-Ferment. Zeitschrift f. Physiol. Ch. 1879, t. 2, p. 403.

Nicloux M. — La microanalyse organique quantitative. *Bull. Soc. Chim.*, t. 35, p. 1041-1067.

Ogier J. et Kohn Abrest E. — Traité de chimie toxicologique, 1924, t. 1, p. 542.

Oppenheimer. — Die Fermente und ihre Wirkungen 1913, Leipzig.

Paderi. — *Bull. Soc. Méd. Chir. Pavria*, 1898, cité *in extenso* dans la thèse de M. Labat, l. c.

Pagenstecher. — Das Vorkommen von Lipasen in Geweben. Biochem. Zeitschr. 1908, t. 13, p. 285.

Parnas J. et Wagner R. — Ueber die ausführung von Bestimmungen, kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl. Biochem. Zeitschr. 1921, t. 125, p. 253.

Portier et Bierry. — Recherche sur l'influence de l'alimentation, sur les secrétions diastasiques. C. R. Soc. Biol. t. 53, p. 810.

Pribram. — Zeitschr. Physiol. ch., 1906, t. 49, p. 457.

Rabuteau. — *Gazette Hebdomadaire de Médecine et de Chirurgie*, 1868, p. 582, C. R. Biol. (4), t. 5, p. 90-91, 1868.

Richaud A. — Sur quelques points relatifs à l'histoire physiologique de l'inulin chez les animaux. C. R. Soc. Biol. 1900, t. 7, p. 416.

Richet. — Dictionnaire de Physiologie 1904, t. 6.

Rosenthaler. — Zeitschr. für Anal. Chemie, 1905, p. 292.

Rosenthaler. — Nachw. organisch. Verbindungen 1923, p. 211.

Scagliarini G. et Pratesti P. — Méthode rapide de dosage de fer. Ann. chim. applicat. 1921, t. 19, cité par *Bull. Soc. Chim. Biol.*, t. 46, p. 1156.

Schaeffer J. — Les ferments. 1929, Masson, édit., Paris.

Schmiedeberg. — Ueber Oxyde und Synthese im Tierkörper Arch. für expérim. pathol. 1881, t. 14, p. 288, 379, cité par Oppenheimer l. c.

Schibata — Cité par Effront, l. c.

Schön. — Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxydes zu Molybdän- u. Titansaüre. Zeitschr. f. analyt. Chemie 1870, t. 9, p. 41, 330.

Sörensen et Andersen. — Zeitschr. für physiol. Chem. 1905, t. 44, p. 429.

Soerensen. — Etudes enzymatiques C. R. du Labor. de Carlsberg 1909. t. 8, livraison 1.

Streng. — Ueber die Ausführung einiger Mikrochemischer Operationen und Reactionen. Zeitschr. für analyt. chem. 1885, t. 23, p. 115 und Chem. Centrablatt 1886, p. 448.

Takenschi. — Cité par Effront. l. c.

Tanaka T. — Zur Kenntnis der Milzenzyme Biochem. Zeitschr, t. 37, 1911.

Terroine E. F., Lepage G., Vehot J. et Wolff H. — La détermination des matières grasses, dans les produits végétaux. Ann. de falsification, 1927, p. 793.

Tollens et Rossive. — Ber. der Deutch. Chem. Gesellschaft 1908, t. 41, p. 1784.

Treadwell F. P. — Manuel de chimie analytique, 1924, Dunod, édit., Paris.

Umeno. — Studien über Phosphatase Bioch. Zeitschr. 1931, 231, p. 347.

Vernon. — *Journal of physiol.*, 32, 1904. p. 33-50.

Villiers et Moreau-Tallon. — *Bull. Soc. Chim.*, 1918, p. 308.

Voït E. — Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweisstickstoffes, Zeitschr. für Biologie, 1926, 84, p. 153.

Walton. — Zeitschr. für analyt. Chem. 1871, t. 9, p. 41, 330.

Weber F. — Ueber eine Methode zur Bestimmung des Extraktivstickstoffes Zeitschr. für Biologie 1926, t. 84, p. 169.

Weller. — Recherche et dosage du titane. Ber. der chem. Gesellschaft. 1882, t. 15, p. 2592.

Wohlgemuth J. — Ueber eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Diastatischen Ferments Biochem. Zeitschr. 1908, t. 9, p. 1.

Yovanovitch A. — Microdosage de l'ammoniaque. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, VII, 1925, p. 665

TABLE DES MATIÈRES

Avant-Propos 7

PREMIERE PARTIE

Quelques brefs renseignements sur l'Opothérapie..... 9
Aperçu historique 9

Quelques données générales sur le foie..... 13
Composition chimique 13

Teneur en phosphore 16
Phosphore total 16
Phosphore lipidique 17
Phosphore nucléique 17
Commentaires et conclusions 17

DEUXIEME PARTIE

Détermination du Ph de la poudre du foie..... 19
Thechnique de la détermination de Ph..... 21

Etudes des matières minérales 23
Recherches qualitatives (Analyse spestroscopique).... 23
Recherches qualitatives 23
Dosage de l'humidité 23
Dosage de cendres 24
Dosage de chlorures 25

Introduction à l'étude de métaux..... 27
Destruction de la matière organique en milieu liquide. 28
Dosage du sodium 30
Dosage du potassium 32
Dosage du calcium 32
Dosage du magnésium 33
Dosage du manganèse 33
Dosage du fer 35
Généralités sur le cuivre, zinc, nickel et cobalt..... 35
Dosage du cuivre 37
Dosage du zinc 38
Dosage du nickel 39
Dosage du cobalt 39
Recherche de l'arsenic 41
Dosage du titane 42

Etude de métalloïdes 45
Dosage du soufre 45
Dosage du phosphore total 46
Dosage du phosphore lipoïdique 47
Dosage du phosphore nucléique 47

Dosage du brome et recherche d'iode..... 48

Conclusion 50

Dosage des lipides 51

Epuisement par l'alcool 51-52
Saponification de l'extrait alcoolique 52
Extraction de l'insaponifiable 52
Recherche et dosage de la cholestérine..... 53

Extraction des acides gras et dosage du saponifiable.. 54
Caractères des acides gras 54
Etude des glucides 57
Recherche et dosage des glucides..... 57
Détermination qualitative des divers sucres..... 59
Recherche de l'inosite 60

Recherche et dosage de Protides 63
Recherches qualitatives 63

Recherches quantitatives 66
Destruction de la matière organique (diverses méthodes): 66
Microdosage de l'azote 68
Dosage de l'ammoniaque 70
Dosage de l'azote soluble (non albuminoïde)..... 70

Recherches des ferments 73

Ferments des glucides 75
Amylase 75
Maltase 78
Glycogénase 78
Recherche de l'inulase 79
Sucrase 80
Recherche de la lactase 81
Glycolase 81
Amygdalase 82
Salicase 82
Hélicase 83
Arbutase 83

Les ferments des lipides 83
Lipase 83
Lécithase 85
Phosphatase 85
Salolase 87

Les ferments des protides et leurs dérivés 87
Peptase 88
Tryptase 89
Ereptase 90

Nucléase 91
Uréase 92
Désamidase 92
Arginase 93
Hippuricase 94

Oxydases, péroxydases et catalases 94
Oxydases 95
Recherche des oxydases 95
Hydroxydases 96
Péroxydases et catalases 97

Ferments réducteurs 98
Nitrase 98
Philothion 99
Recherche de glutathion 100

Conclusion 101

CONCLUSIONS GENERALES 103

Bibliographie 107